

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1964

THÈSE

N°

760

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

TRAN BA LOC

né le 5 Janvier 1926 à Soc-Trang (Sud-Viêtnam)

Docteur ès Sciences
Docteur en Pharmacie

Présentée et soutenue publiquement le

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA CANCEROGENESE EXPERIMENTALE
PAR DES ANTIBIOTIQUES ADMINISTRES A HAUTE DOSE :
ETUDE PARTICULIERE DE LA TUMEUR ST₄
INDUITE PAR LE CHLORAMPHENICOL CHEZ DES SOURIS SWISS.

Président :

Mr. Jean BERNARD,

Professeur

EDITIONS A.G.E.M.P. - 8 RUE DANTE - PARIS V°



Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1964

THÈSE

N° —

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

TRAN BA LOC

né le 5 Janvier 1926 à Soc-Trang (Sud-Viêtname)

Docteur ès Sciences
Docteur en Pharmacie

Présentée et soutenue publiquement le

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA CANCEROGENESE EXPERIMENTALE
PAR DES ANTIBIOTIQUES ADMINISTRES A HAUTE DOSE :
ETUDE PARTICULIERE DE LA TUMEUR ST₄
INDUITE PAR LE CHLORAMPHENICOL CHEZ DES SOURIS SWISS.

Président :

Mr. Jean BERNARD,

Professeur

EDITIONS A.G.E.M.P. - 8 RUE DANTE - PARIS V°

FACULTEIT DE WETENSCHAPPEN

THESE

ANNO 1883

DOCTORAT EN RECHT

DE WET

IN HET RECHT VAN DE NEDERLANDEN

DOOR DE WET

DE WET



15-12-1983

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. Alajouanine (T.), Aubin (A.), Bénard (H.), Binet (L.), Bulliard (H.), Cadenat (F.), Cathala (J.), Chabrol (E.), Chailley-Bert (P.), Debré (R.), Fey (B.), Galliard (H.), Gaudart d'Allaines (F. de), Gennes (L. de), Halphen (E.), Hazard (R.), Heuyer (G.), Laroche (G.), Lavier (G.), Lelong (M.), Lévy-Solal (E.), Lian (C.), Mathieu (P.), Monod (R.), Moreau (R.), Moulonguet (P.), Mouquin (M.), Olivier (E.), Pasteur Vallery-Radot, Petit-Dutaillis (D.), Piédelièvre (R.), Quénu (J.), Richet (C.), Senèque (J.), Strohl (A.), Tanon (L.), Verne (J.).

DOYEN Gaston CORDIER.
1^{er} ASSESSEUR } Daniel BARGETON
2^e ASSESSEUR } Paul CASTAIGNE

I. — PROFESSEURS

1^o CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

a) Professeurs titulaires :

	MM.
Anatomie	DELMAS (A.)
Anatomie pathologique	DELARUE (J.)
Anesthésiologie	BAUMANN (J.)
Biochimie médicale	JAYLE (M.-F.)
Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports	MALMEJAC (J.)
Biologie médicale	FAUVERT (R.)
Biophysique médicale	BUGNARD (L.)
—	DOGNON (A.)
—	DJOURNO (A.)
Cancérologie médicale et sociale	BERNARD (J.)
Chimie pathologique	SCHAPIRA (G.)
Embryologie	TUCHMANN (H.)
Gérontologie expérimentale	N...
Histoire de la médecine et de la chirurgie	JOANNON (P.)
Histologie	GIROUD (A.)
Hygiène et médecine préventive	BOYER (J.)
Médecine du Travail	DESOLLE (H.)
Médecine légale	DEROBERT (L.)
Microbiologie (Bactériologie et virologie)	FASQUELLE (R.)
Parasitologie	BRUMPT (L.-G.)
Pathologie chirurgicale	LAURENCE (G.)
Pathologie exotique	N...
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN (F.-P.)
Pathologie médicale	LAROCHE (Cl.)
—	BRICAIRE (H.)
Pathologie respiratoire	TURIAF (J.)
Pathologie et thérapeutique générales	DEPARIS (M.)
Pharmacologie	CHEYMOL (J.)
Physiologie	BARGETON (D.)
—	PARROT (J.)
Physiologie et pathologie obstétricales	LEPAGE (F.)
Radiologie médicale	DESGREZ (H.)
Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale	CAUCHOIX (J.)
Thérapeutique	CONTE (M.)
Thérapeutique appliquée	LAMOTTE (M.)

b) Professeurs à titre personnel :

Anatomie anthropologique	OLIVIER (G.)
Biochimie médicale	{ DESGREZ (P.)
Biologie médicale	{ POLONOVSKI (J.)
Pharmacologie	BOURLIÈRE (F.)
Physiologie	LÉVY (M ^{lle} J.)
Physique médicale	DEJOURS (P.)
Radiologie médicale	{ KELLERSHOHN (L.)
	{ GOUGEROT (L.)
	FISCHGOLD (H.)

2° CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

a) Professeurs titulaires :

MM.

Clinique carcinologique chirurgicale (Necker)		REDON (H.)
Clinique cardiologique (Broussais)		SOULIÉ (P.)
	Beaujon	LORTAT-JACOB (J.-L.)
	Cochin	LEGER (L.)
	Hôtel-Dieu	PATEL (J.)
Cliniques chirurgicales	Pitié	CORDIER (G.)
	Saint-Antoine	GOSSET (J.)
	Salpêtrière	SIGARD (A.)
	Tenon	OLIVIER (Cl.)
Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants-Malades)		FÈVRE (M.)
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique (Cochin)		MERLE d'AUBIGNÉ (R.)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais)		DUBOST (Ch.)
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire (Laennec)		MATHEY (J.)
Clinique endocrinologique (Pitié)		DEGOURT (J.)
Clinique de Génétique médicale (Enfants-Malades)		LAMY (M.)
Clinique gynécologique (Broca)		HUGUIER (J.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (Saint-Louis)		DEGOS (R.)
Clinique des maladies des Enfants (Enfants-Malades)		TURPIN (R.)
Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard)		MOLLARET (P.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Sainte-Anne)		DELAY (J.)
Clinique des maladies métaboliques (Necker)		HAMBURGER (J.)
Clinique des maladies du sang (Broussais)		MARCHAL (G.)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)		CASTAIGNE (P.)
	Broussais	MILLIEZ (P.)
	Broussais	LENÈGRE (J.)
	Cochin	BROUET (G.)
Cliniques médicales	Hôtel-Dieu	BARIÉTY (M.)
	Lariboisière	SÈZE (S. de)
	Pitié	DREYFUS (G.)
	Saint-Antoine	KOURILSKY (R.)
	Saint-Antoine	BOUDIN (G.)
Clinique d'hydrologie et de climatologie (Bichat)		DEBRAY (Ch.)
Clinique médicale infantile de pédiatrie sociale (Enfants-Malades)		MARIE (J.)
Clinique médicale propédeutique (Broussais)		JUSTIN-BESANÇON (L.)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition (Hôtel-Dieu)		DEROT (M.)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié)		DAVID (M.)
Clinique neurologique (Salpêtrière)		GARCIN (R.)
Cliniques obstétricales	Baudelocque	LACOMME (M.)
	Foch (Suresnes)	MERGER (R.)
Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal)		VARANGOT (J.)
Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu)		RENARD (G.)
	(Cochin)	OFFRET (G.)
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière)		AUBRY (M.)
Clinique de pédiatrie et de puériculture (Saint-Vincent-de-Paul)		N...
Clinique de pneumo-phthisiologie (Laennec)		BERNARD (E.)
Clinique de neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière)		MICHAUX (L.)
Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)		COSTE (F.)
Clinique stomatologique (Salpêtrière)		DECHAUME (M.)
Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard)		ROUX (M.)
Clinique thérapeutique médicale (Saint-Antoine)		LEMAIRE (A.)
Clinique toxicologique		GAULTIER (M.)
Clinique urologique (Cochin)		ABOULKER (P.)
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique		PADOVANI (P.)
Séméiologie médicale		DOMART (A.)
Séméiologie et clinique chirurgicales		POILLEUX (F.)
Séméiologie traumatique et orthopédique		JUDET (R.)
Clinique urologique (Necker)		COUVELAIRE (R.)
Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau)		N...

b) Professeurs à titre personnel :

Hydrologie et climatologie	GIBERTON (A.)
Maladies infectieuses	BASTIN (R.)
	AZERAD (E.)
	BOUR (H.)
	LAMBLING (A.)
Médecine	LHERMITTE (F.)
	PEQUIGNOT (M.)
	PERRAULT (M.)
	SIGUIER (F.)
	WORMS (R.)
Oto-Rhino-Laryngologie	MADURO (R.)
Pneumo-Phthisiologie	KREIS (B.)
Rhumatologie	DELBARRE (F.)

MM.

	BARGAT (J.)
	BINET (J.-P.)
	BLONDEAU (Ph.)
	GERBONNET (G.)
	CHATELIN (G.-L.)
	DAUTRY (P.)
	DEMIRLEAU
	DUBOST (Cl.)
	FAUREL (J.)
	FLABEAU (F.)
	GALEY (J.-J.)
	GARBAY (M.)
	GARNIER (H.)
Pathologie chirurgicale . . .	BAUDART d'ALLAINES (Cl. de)
	GERMAIN (A.)
	LATASTE (J.)
	LOYGUE (J.)
	MAILLARD (J.-N.)
	MERCADIER (M.)
	NATALI (J.)
	PELLERIN (D.)
	PERROTIN (J.)
	PREMONT (M.)
	ROBERT (H.)
	THOMERET (G.)
	VAYSSE (J.)
Pathologie exotique . . .	SCHNEIDER (J.)
Pathologie expérimentale . . .	BERTHAUX (P.)
	COTTENOT (Fr.)
	LEPER (J.) Pr. s. ch.
	MAURICE (J.)
	MIKOL (Cl.)
	PAUPE (J.-R.)
	ACAR (J.)
	AUQUIER (L.)
	AUSSANNAIRE (M.)
	BEAUMONT (J.-L.)
	BERNIER (J.-J.)
	BOUVIER (J.)
	BOUVRAIN (Y.)
	BRISAUD (H.)
	BROCARD (H.)
	BUGE (A.)
	CANIVET (J.)
	CARLOTTI (J.)
	CATINAT (J.)
	CHRÉTIEN (J.)
	CLOAREC (M.)
	COBLENTZ (B.)
	CONTAMIN (F.)
	COURY (G.)
	DEBRAY (J.)
	ÉTIENNE (J.-P.)
Pathologie médicale . . .	FREZAL (J.)
	FRITEL (D.)
	FUNCK-BRENTANO (J.-L.)
	GRIVAUX (M.)
	HAZARD (J.)
	HENNEQUET (A.)
	HIMBERT (J.)
	HOUSSET (E.)
	LAGRUE (G.)
	LESOBRE (R.)
	LEVEQUE (B.)
	MACREZ (C.)
	MOREAU (L.)
	NENNA (A.)
	NICK (J.)
	POULET (J.)
	ROYER (P.)
	TCHERDAKOFF (Ph.)
	THIBAUT (Ph.)
	TOURNEUR (R.)
	VILLIAUMEY (J.)
	WOLFROMM (R.)

MM.

	ALAGILLE (D.)
	ALISON (J.)
	CANLORBE (P.)
	GORIN (R.)
	LAFOURCADE (J.)
	LEPERCQ (G.)
	LESTRADET (H.)
Pédiatrie-Puériculture . . .	MALLET (R.)
	MANDE (K.)
	MINKOWSKY (A.)
	MOZZICONACCI (P.)
	POLONOVSKI (C.)
	REY (J.)
	RIBIERRE (M.)
	ROSSIER (A.)
	VIALATTE (J.)
Pharmacologie	BOISSIER (J.)
	LECHAT (P.)
Physiologie	BARRES (G.)
	DURAND (J.)
	GIRARD (Fr.) m. conf.
	HUGELIN (A.)
	LAURENT (D.)
	SCHERRER (J.)
	Pr. s. ch.
	VASSEUR (B.)
Physique médicale	CHANTEUR (J.)
	COURSAGET (J.)
	GREMY (F.) m. conf.
	MILHAUD (G.)
	PAGÈS (J.-Cl.)
	PELLERIN (P.)
	ROUCAYROL (J.-C.)
	Pr. s. ch.
	TUBIANA (M.) m. conf.
Pneuma phthisiologie	DEGROIX (G.)
	ISRAEL (L.)
	MEYER (A.)
	RENAULT (P.)
	SORS (Ch.)
Psychiatrie infantile	DENIKER (P.)
	DUCHE (D.)
	FLAVIGNY (H.)
Radiologie médicale	DUBOST (J.)
	LEFEBVRE (J.)
	MICHEL (J.-R.)
Rhumatologie	MASSIAS (P.)
Stomatologie	CAUHEPE (J.)
	CERNEA (P.)
	CHAPUT (M ^{me} A.)
	M. C. Bp.
	GREPY (Cl.)
	FLEURY (R.)
	GRELLET (M.)
Thérapeutique	CHASSAGNE (P.)
	FOUET (P.)
	LABET (R.)
	MARCHE (J.)
Urologie	AUVERT (J.)
	MOULONQUET (A.)
	QUENU (L.)

II. -- PROFESSEURS SANS CHAIRE, PROFESSEURS AGRÉGÉS ET MAÎTRES DE CONFÉRENCES - AGRÉGÉS

	MM.
Anatomie	CABROL (C.) COUINAUD (C.) GILLOT (C.) HUREAU (J.)
Anatomie pathologique	GAUTHIER-VILLARS (Mlle P.), pr. s. ch. ABELANET (R.) CHOMETTE (G.) GOUYGOU (Ch.), pr. s. ch. NEZELOFF (Ch.) ORCEL (L.) PAILLAS (J.)
Anesthésiologie	N. du BOUCHET (M ^{me}) KERN (E.) VOURC'H (G.)
Bactériologie	BARBIER (P.) pr. s. ch. CHRISTOL (D.) DAGUET (G.) LE MINOR (L.) TOURNIER (P.)
Biochimie médicale	BAULIEU Et. m. conf. BOURILLON (R.) CARTIER (P.) pr. s. ch. CORNILLOT (P.) DREYFUS (J.-Cl.) GONNARD (P.) JEROME (H.) KRUH (J.) LEGRAND (J.-Cl.) NORDMANN (J.)
Biologie appliquée à l'Education Physique et aux Sports	PLAS (F.)
Biologie médicale	BENHAMOU (J.-P.) BOIVIN (P.) HARTMANN (L.) pr. s. ch.
Carcinologie	BOIRON (M.) DENOIX (P.) MATHE (G.) SELIGMANN (M.)
Cardiologie	HATT (P.-Y.)
Dermato-Syphiligraphie	CIVATTE (J.) DUPERRAT (B.) HEWITT (J.) TOURAINE (R.)
Electro-Radiologie	HEITZ (F.) m. conf. LEDOUX-LEBARD (G.)
Embryologie	ROUX (Ch.)
Hématologie	BESSIS (M.) BILSKI-PASQUIER (G.) DUSSET (J.) DUHAMEL (G.)
Histologie	COUJARD (R.), pr. s. ch. DA LAGE MAROIS (M.) RACADOT (J.) SCHRAMM (B.)

	MM.
Hydrologie	BESANÇON (F.) CORNET (A.)
Hygiène	BLANCHER (G.) CORRE-HURST (M ^{me} L.) ROUSSEL (A.) SAPIN-JALOUSTRE (H.)
Maladies infectieuses	DUPONT (V.) LISSAC (J.) RAPIN (M.)
Maladies métaboliques	ANTOINE (B.) CROSNIER (J.) RICHET (G.) SEBAOUN (J.)
Médecine légale	BOURGUIGNON (A.) FOURNIER (E.) GUENIOT (M.) HADENGUE (A.)
Médecine du travail	ALBAHARY (C.)
Neuro-chirurgie	PERTUISSET (B.)
Neuro-Psychiatrie	CAMBIER (J.) CATHALA (H.) ESCOUROLLE (R.) GAUTIER (J.-Cl.) LAPRESLE (J.) LEREBoullet (J.) PICHOT (P.) TARDIEU (G.)
Obstétrique	GRANJON (A.) HERVET (E.) LE LORIER (G.) LEVY (J.) LEWIN (D.) MUSSET (R.) ROBEY (M.) SENEZE (J.) SUREAU (C.) TCHOBROUTSKY (M ^{me} C.) THOYER-ROZAT (J.)
Ophtalmologie	AUVERT (M ^{me} B.) BRÉGEAT (P.) DUBOIS (A.) FONTAINE (M ^{me} M.) SARAUX (H.)
Orthopédie	DUPARC (J.) MAURER (P.) MEARY (R.) POSTEL (M.) RAMADIER (J.)
Oto-rhino-Laryngologie	DEBAIN (J.) PIALOUX (P.) SERGENT (H.)
Parasitologie	GOLVAN (Y.) HO THI SANG (Mlle) LAPIERRE (J.)

III. — PROFESSEURS SANS CHAIRE ET AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE à titre permanent.

MM.		MM.	
Anatomie	DEBEYRE (J.)	Clinique ophtalmologique	DESIGNES (P.)
Clinique chirurgicale . . .	VERNE (J.-M.)	Clinique pédiatrique et pué- riculture	LAPLANE (R.)
Clinique médicale	{ RAMBERT (P.) THIEFFRY (S.)	Clinique psychiatrique. . .	BARUK (H.)
Clinique obstétricale . . .	{ GRASSET (J.) MAYER (M.) MORIN (P.)	Clinique urologique . . .	KUSS (R.)

IV. — PROFESSEURS DÉTACHÉS DANS LES UNIVERSITÉS ÉTRANGÈRES

Bactériologie.	HAUDUROY (P.) Pr. s. ch.
Pathologie chirurgicale	RUDLER (J.) Pr. s. ch.

V. — CHARGÉS DE COURS D'HYGIÈNE SCOLAIRE ET UNIVERSITAIRE { BOLTANSKI (E.) LAUNAY (C.)

Secrétaire général de la Faculté	M. LENA (J.)
Conseiller administratif	Mlle CHAINTREUIL (G.)
Conservateur en Chef de la Bibliothèque	M. le Docteur HAHN (A.)
Conservateur du Musée d'Histoire de la Médecine	
Conservateurs	Mlles DUMAITRE (P.), LE NOIR (G.), QUIÉVREUX (E.)
Bibliothécaires.	{ Mmes CONTET (J.), FORGET (F.), Mlle LAURENT (H.), Dr SCHILLER (J.)

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A ma femme

A mes parents

A mes beaux-Parents

A mes enfants.

A mon Maître

Monsieur le Professeur Jean BERNARD

qui, après m'avoir conseillé d'entreprendre les études de Médecine, m'a constamment soutenu, encouragé, réconforté durant ces longues années avec une grande bonté.

Qu'il veuille bien accepter ces pages en hommage tout particulièrement respectueux et reconnaissant.

A mon Maître

Monsieur le Docteur Alphonse ABAZA,
Médecin en Chef de l'Hôpital de Villeneuve-St-Georges,

qui m'enseigne magistralement chaque
jour l'art de soigner.

Ma respectueuse gratitude.

A Monsieur le Professeur Agrégé Georges MATHE

en souvenir de belles années de
recherches.

A tous mes Amis.

Ce travail a pu être réalisé grâce à l'aide du Centre National de la Recherche Scientifique et celle du Comité des Cancers et Leucémies, que nous tenons à remercier très vivement.

PREMIERE PARTIE



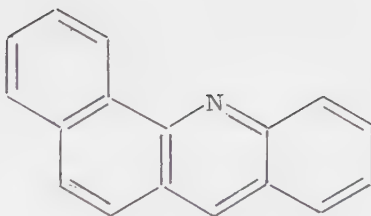
INTRODUCTION

I - INTRODUCTION A LA CANCEROGENESE CHIMIQUE

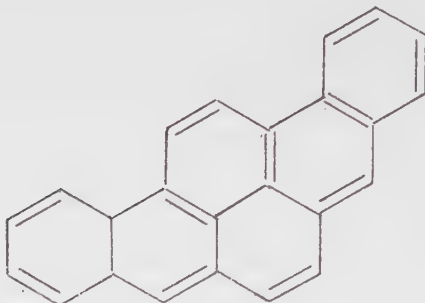
A - Historique

La cancérogénèse chimique est l'étude de la formation des néoplasmes causés par des substances chimiquement définies, d'origine naturelle ou synthétique sur des organismes animaux. Les néoplasmes expérimentaux obtenus se prêtent à l'étude histologique, biochimique et physico-chimique, aussi bien que les essais chimiothérapeutiques.

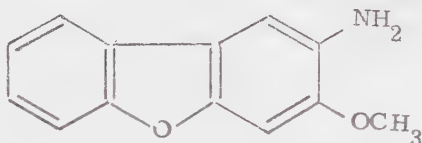
COOK, HIEGER, KENNAWAY et MAYNEORD (32), en 1930, obtinrent les premiers succès dans la production d'épithéliomas de la peau de la Souris par badigeonnage avec un hydrocarbure polycyclique, le 1, 2 - 5, 6-dibenzanthracène. Depuis ces travaux princeps, on a trouvé plus d'une centaine de substances définies capables de produire des cancers les plus variés. LACASSAGNE et coll. (78) ont obtenu des épithéliomas variés sur la peau de la Souris par badigeonnage avec des hydrocarbures aromatiques tels que les dérivés de la benzacridine :



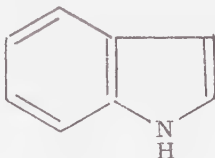
En utilisant la voie sous cutanée, LACASSAGNE et coll. (79) ont obtenu des sarcomes avec le 3,4-9,10-dibenzanthracène :



HACKMANN (67) a observé l'apparition de tumeurs malignes de la vessie chez le Rat par ingestion du 2-amino-3-méthoxy-dibenzofurane :



COX, WILSON et EDS (33) a montré que le 2-acétaminofluorène possède une polyvalence dans l'action cancérigène qu'il est capable de Cancériser le foie, les mamelles, l'intestin grêle et même le conduit auditif externe. Dans la molécule 2-acétaminofluorène, le remplacement du radical acétamino par un groupement nitro NO_2 confère à la nouvelle molécule la propriété de produire une plus forte proportion de cancers gastriques que des cancers mammaires, ces substances habituellement cancérigènes à fortes doses produisent cependant à doses minimales une grande fréquence de leucémies. Ce dernier fait rapproche la cancérogénèse chimique de la cancérogénèse par des radiations ionisantes. BUNGELER (28), Jean BERNARD (14) ont démontré une grande chimiosensibilité des cellules souches du sang dans l'obtention des hémopathies malignes chez le Rat par injection intramédullaire des molécules cycliques relativement simples telles que l'indole.



Les cancers et leucémies expérimentaux induits par les cancérigènes chimiques avec des proportions allant jusqu'à 100 % et avec des temps de latence variés de l'ordre de trois ou quatre mois ou plus, sont en tous points analogues aux tumeurs spontanées qui apparaissent chez les mêmes animaux.

B - Mécanisme d'action des cancérigènes chimiques

De nombreuses recherches ont été effectuées au cours des dernières décades pour élucider les processus biochimiques qui sont déclenchés au niveau des cellules normales par des cancérigènes chimiques, et qui sont capables, après un temps de latence plus ou moins long, de transformer ces cellules normales en cellules cancéreuses qui échappent au système régulateur de la multiplication cellulaire.

On a pensé tout d'abord que l'effet primaire des cancérigènes chimiques sur la cellule normale obéit au postulat d'Ehrlich "corpora non agunt nisi fixata", applicable à l'action pharmacodynamique des médicaments. Mais comment des substances aussi inertes au point de vue chimique que des hydrocarbures polycycliques arrivent-elles à se fixer sur des protéines cellulaires ? On a envisagé l'hypothèse d'une liaison entre le cancérigène et la protéine cellulaire par les forces de valence secondaire dites de Van der WAALS qui sont intenses autour des zones de fortes densités en électrons

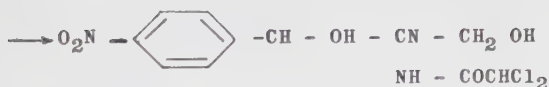
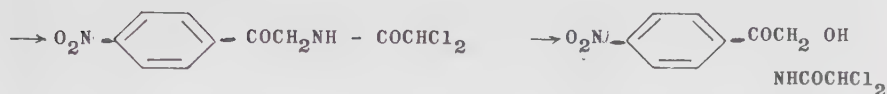
. On sait en effet que les hydrocarbures cancérigènes comportent des régions qui possèdent une forte densité en électrons susceptibles de combler certains espaces de l'édifice de la protéine cellulaire au dépens des métabolites normaux. On doit envisager le rôle favorisant des virus oncogènes et non sur l'action des cancérigènes ou non sur l'action des cancérigènes. LACASSAGNE et NYKA (80), ROUS et KIDD (99) ainsi que DURAND-RAYNALS (46) ont montré une synergie remarquable entre virus et cancérigènes dans la production des tumeurs malignes.

II - ETUDES SUR LE CHLORAMPHENICOL

A - Chimie du Chloramphénicol :

Le Chloramphénicol fut isolé en 1947 par EHRLICH, BARTZ, SMITH, JOSLYN et BURKHOLDER (50) à partir de *Streptomyces venezuelae*. Puis REBSTOCK, CROOKS, CONTROULIS et BARTZ (96), par l'étude de son spectre aux Rayons ultra-violet et par des réactions de dégradation, ont déterminé la structure suivante :

LONG et TROUTMAN partent de la p-nitro-acétophénone qui est bromée puis transformée en amine par action de l'hexaméthylène-tétramine et l'hydrolyse chlorhydrique selon la méthode de DELEPINE et SOMMELET. L'amine obtenue est ensuite acétylée puis condensée avec l'aldéhyde formique en milieu alcalin. On termine par une réduction avec la méthode d'OPPENAUER pour obtenir le Chloramphénicol. Les réactions sont :



B - Action inhibitrice du Chloramphénicol sur la biosynthèse des petites molécules.

On n'a pas pu prouver directement l'inhibition par le Chloramphénicol de la synthèse de petites molécules qui participent à la constitution de la cellule. Cependant, les preuves indirectes du contraire sont nombreuses.

MANDELSTAM (87) a montré que dans les cultures d'*Escherichia coli* croissant dans un milieu contenant des sels et du glucose mais dépourvu d'acides aminés essentiels, il y a une augmentation marquée du taux de tous les acides aminés libres après addition du chloramphénicol. Cela est dû au fait que la synthèse de tels aminés continue sous l'action du chloramphénicol, alors que leur incorporation aux protéines est suspendue. Il en résulte une augmentation de la concentration des amino-acides dans le pool de la cellule et une excrétion des amino-acides dans le milieu de culture.

Comme cet antibiotique n'inhibe pas la synthèse de l'acide nucléique, on pense que la synthèse des bases puriques et pyrimidiques, des ribonucléotides ainsi que des désoxyribonucléotides, ne serait pas inhibée. WISSEMAN et coll. ont montré (119) que l'incorpo-

ration de la glycine marquée au C^{14} dans l'adénine et la guanine de l'acide nucléique n'est pas affectée par des concentrations de Chloramphénicol telles qu'elles réduisent d'une manière marquée l'incorporation de la glycine dans les protéines. D'autre part, ASTRACHAN et VOLKIN (7) ont montré que l'incorporation de phosphore P^{32} inorganique dans les nucléotides n'est pas inhibée par le Chloramphénicol. Enfin, on sait que le Chloramphénicol est un bon inhibiteur de la croissance de bacilles lactiques qui ne peuvent synthétiser leurs propres amino-acides, purines et pyrimidines. Tous ces faits nous permettent de conclure que le chloramphénicol est un inhibiteur de croissance qui n'agit pas en inhibant la synthèse de petites molécules, métabolites des nucléoprotéines.

C - Action inhibitrice de la biosynthèse de macromolécules à partir de petites molécules :

1 - Inhibition de la synthèse des protéines :

Après l'addition du chloramphénicol à la dose de 10 μ g par ml dans des cultures de cellules en croissance, La synthèse des protéines est inhibée à l'ordre de 95 à 100 %. Ce phénomène a été démontré par GALE et FOLKES (56) sur *Staphylococcus aureus* et par WISSEMAN et coll. (119) sur *Escherichia coli*.

En particulier, il y a inhibition par le chloramphénicol de la synthèse des enzymes suivants : aldolase, phosphatase alcaline, amylase, acide aminolévulinique déshydrase, acide aminolévulinique synthétase, catalase, β -galactosidase, nitrate réductase, ornithine transcarbamylase, phosphomonoestérase, ribonucléase de *E. coli*. Dans tous ces cas, le chloramphénicol n'inhibe pas l'activité des protéines mais seulement leur synthèse.

2 - Inhibition de la synthèse des peptides :

Dans la plupart des organismes, les amino-acides incorporés dans les peptides sont habituellement de la série L, sauf quelques bactéries dont les peptides contiennent les amino-acides de la série D. HAHN et coll. (69) ont montré que la synthèse par *Bacillus subtilis* d'un polypeptide qui est composé exclusivement d'acide D-glutamique n'est pas inhibée par le chloramphénicol, si l'on utilise l'isomère D (-)-thréo de celui-ci. Par contre l'isomère L (+)-érythro du chloramphénicol inhibe entièrement cette synthèse. Il apparait que le chloramphénicol agit sur le point de liaison des différents acides aminés qui forment le peptide.

3 - Effets du chloramphénicol sur la synthèse des acides nucléiques :

GALE et FOLKES (56) furent les premiers à rapporter que le chloramphénicol stimule la synthèse des acides nucléiques de *Staphylococcus aureus*. Par contre WISSEMAN et coll. (II9) ont montré une légère stimulation ou aucune inhibition significative d'une telle synthèse.

L'acide ribonucléique et l'acide désoxyribonucléique sont tous les deux synthétisés en présence de chloramphénicol dans les cellules en croissance. En général, la synthèse de l'ADN est partiellement inhibée, mais l'ADN qui reste formé apparaît comme biologiquement actif. THOMAS (110) a montré dans les *Escherichia coli* infectés par des phages, que l'ADN synthétisé en présence de chloramphénicol peut être incorporé dans des phases viables. Plus tard, des mutations induites dans les *Escherichia coli* par le chloramphénicol peuvent se manifester, si bien que le DNA ainsi synthétisé reste génétiquement fonctionnel. DJORDJEVIC et SZYBALKI (39) ont montré que le DNA synthétisé dans les cellules humaines en présence de chloramphénicol est biologiquement fonctionnel.

Cependant, le ARN lié au chloramphénicol, d'après HOROWITZ et coll. (75) apparaît comme instable alors que l'ARN normal reste stable. Il s'en suit un changement dans la composition des ribosomes, c'est-à-dire des particules de ribonucléoprotéines. Les ribosomes des cellules en croissance contiennent les 80 à 90 % de l'ARN total de la cellule et existent sous différentes dimensions avec des constantes de sédimentation de 30, 50, 70 et 100 S., dans lesquelles les constantes 70 S et 100 S sont prédominantes. DAGLEY et SYKES (35) ont examiné des cellules traitées par le chloramphénicol et ont constaté l'existence des pics nouveaux avec de grande concentration à 18 S et à 14 S. Ces pics disparaissent si l'on élimine le chloramphénicol.

Ces nouveaux types de ribosomes qui apparaissent sous l'influence du chloramphénicol contiennent 49 % d'ARN et 51 % de protéines c'est-à-dire moins d'ARN et plus de protéines que dans les ribosomes normaux. Comme l'on sait que le chloramphénicol inhibe la synthèse des protéines, on peut penser que l'inhibition des protéines des ribosomes qui est la cause de la diminution des dimensions des ribosomes. Ce qui explique que les particules ayant les constantes de sédimentation de 30 S diminuent pendant que celles de 14-18 S riches en ARN sont formées. GROS et GROS (62) ont montré que l'ARN synthétisé en présence du chloramphénicol, comme l'ARN normal, exige l'apport complet d'acides aminés. DOUDNEY (43) a trouvé grâce à des cultures simultanées que la synthèse de l'ADN est inhibée quand le chloramphénicol est ajouté juste avant la division cellulaire, alors que l'ARN a sa synthèse bloquée si l'antibiotique

est ajouté juste après la division de la cellule. Probablement, des enzymes qui impliquent dans la synthèse des acides nucléiques sont formés seulement à certains stades de la division cellulaire ce qui fait que l'antibiotique additionné juste durant ces stades empêche indirectement la synthèse de l'acide désoxyribonucléique. CRAWFORD (34) a observé tel phénomène dans les bactéries infectées par des phages.

D'après DRACULIE et ERRERA (44) la synthèse de l'ADN des cellules irradiées par les rayons ultra-violets est aussi inhibée par le chloramphénicol, HAROLD et ZIPORIN (72) ont trouvé pareillement pour les cellules traitées par la moutarde au soufre. Ces deux derniers faits pourraient être expliqués par l'inhibition par le chloramphénicol de la synthèse de nouvelles protéines indispensables à la réparation de l'ADN endommagé par cette irradiation ou par cet agent alkylant radiomimétique.

D - Etude du chloramphénicol en génétique :

Des cellules irradiées avec des doses appropriées de rayons ultra-violets ou de rayons X et cultivées sur des milieux nutritifs à l'agar-agar, donnent un nombre de colonies inversement proportionnel à la dose d'irradiation. Si on incube au préalable ces cellules avec le chloramphénicol sur gélose pendant 1 à 3 heures avant de les transférer dans un autre milieu gélosé, on obtient une prolifération cellulaire. En effet GILLIES et ALPER (60), qui ont effectué cette expérience trouvèrent qu'un grand pourcentage de cellules n'ayant pas proliféré directement sur la gélose, croissaient très bien après une incubation en présence de chloramphénicol. Ce qui montre que la synthèse de certaines protéines est nécessaire pour que les lésions dues aux radiations soient réparées. WITKIN et THEIL (120) ont montré que les effets mutagènes des irradiations sont renversés par le chloramphénicol. Ce phénomène n'est pas propre à cet antibiotique car le manque d'acides aminés essentiels donne le même résultat. Cependant il est plus simple d'ajouter le chloramphénicol que de supprimer ces précurseurs des protéines.

DEUXIEME PARTIE

INDUCTION D'UNE TUMEUR TRANSPLANTABLE

PLAN DE LA DEUXIEME PARTIE

oOo

- A - Induction d'une tumeur transplantable, dénommée sarcome ST₄ chez des souris Swiss adultes par injections de chloramphénicol à haute dose.
- B - Etude de la pathogénie du sarcome ST₄.
- C - Conservation des tumeurs aux basses températures voisines de - 80° C.
- D - Discussions.

A - INDUCTION D'UNE TUMEUR TRANSPLANTABLE, DENOMMEE
SARCOME ST₄, CHEZ DES SOURIS SWISS ADULTES PAR INJEC-
TIONS DE CHLORAMPHENICOL A HAUTE DOSE :

On sait que les antibiotiques agissent en général par leur action sur le métabolisme des acides nucléiques. C'est ainsi que la streptomycine agit sur le bacille tuberculeux en inhibant la biosynthèse de ses constituants cellulaires. SCHWARTZ et SCHOOLMAN ont montré l'action inhibitrice du Chloramphénicol ou D-(-)-thréo-dichloro-acétamido-2 p-nitrophényl-I propanediol-1, 3 sur la reproduction in vitro du bactériophage. Or depuis les travaux de Gross, il est démontré que l'injection de filtrats acellulaires de leucémies de Souris AK à des souris C₃H nouveaux-nées produit chez celles-ci des tumeurs parotidiennes, de la même manière que l'irradiation X de souris AK. Dans l'un ou l'autre cas, on a pu en isoler le virus oncogène responsable. Dans le premier cas, la sortie du virus latent se transformant en virus oncogène serait dû à un changement d'environnement ; dans le deuxième cas, cette même sortie est due à l'effet inducteur des rayons X qui, d'ailleurs, sont capables d'induire la transformation du prophage inactif des bactéries lysogènes en bactériophages virulents pour ces mêmes bactéries. De ce double point de vue de modification de l'environnement et de modification du métabolisme des acides nucléiques, nous nous sommes demandé si tels phénomènes ne seraient pas reproductibles par des médicaments puissants tels que les antibiotiques qu'on sait capables de modifier ou de détruire la flore microbienne du tractus intestinal tout en agissant sur le métabolisme des acides nucléiques des organismes suivants se trouvant en leur présence.

Ces considérations théoriques nous ont incité à entreprendre un travail concernant l'action à haute dose d'antibiotiques sur la biologie souris de lignée pure.

Nous nous sommes adressé tout d'abord Chloramphénicol, parce que nous espérions au moins pouvoir reproduire la cytopénie chez la souris. On connaît en effet des cas d'aplasie médullaire mortelle chez l'homme. A notre grande surprise, nous avons obtenu des résultats négatifs concernant la cytopénie expérimentale. Et c'est plutôt une splénomégalie observée au cours de cette étude chez ces souris swiss adultes qui nous a incité à des essais de transplantation de la grosse rate, nous conduisant à l'isolement du sarcome ST₄.

Pour effectuer ce premier travail, nous nous sommes adressé aux souris swiss, parce qu'on sait que cette lignée, d'après SCHWARTZ, comporte moins de 2 % de leucémie spontanée à l'âge de un an.

Matériel et méthodes :

A cinq lots comportant chacun dix souris swiss adultes âgées de 3 mois environ, provenant du Centre de Sélection des Animaux du Centre National de la Recherche Scientifique à Gif-sur-Yvette, nous avons injecté journellement par voie intra-péritonéale :

Lot N° 1 : 20 mg par kilogramme de Chloramphénicol
dans 0,5 ml de soluté salin isotonique ;

Lot N° 2 : 40 mg par kilogramme de Chloramphénicol
dans 0,5 ml de soluté salin isotonique ;

Lot N° 3 : 100 mg par kilogramme de Chloramphénicol
dans 0,5 ml de soluté salin isotonique ;

Lot N° 4 : 0,5 ml de soluté salin isotonique

Lot N° 5 : Témoins sans aucun traitement.

Etude hématologique :

Tous les deux jours, nous prélevons du sang en coupant l'extrémité de la queue pour faire l'étude hématologique au point de vue monocytose, polynucléose et thrombocytose. Nous utilisons la technique de numération différentielle directe des polynuclées et des mononuclées décrite par ANGUIANO et ANCIRA (5). Cette méthode moins laborieuse et plus rapide que la méthode classique des frottis convient parfaitement à une telle étude, car de nombreuses numérations doivent être effectuées le même jour. L'analyse statistique faite par MATHE et KLINE (89) a montré que l'uniformité de répartition des leucocytes dans la cellule de MALASSEZ utilisée permet d'obtenir des résultats aussi valables que la méthode des frottis.

L'émulsion est faite au 1/20 en pipette de POTAIN, et la lecture est faite en cellule de MALASSEZ.

La formule du liquide de dilution est la suivante :

Alcool méthylique..... 10 ml

Giemsa..... 4 ml

Bleu de toluidine à 0,25 %..... 4 ml

Tampon acétique 0,1 M. (pH=5),..... 4 ml

Eau distillée 20 ml

Pour étudier la thrombocytose, on fait la dilution au 1/20 en pipette de POTAIN avec une solution d'oxalate d'ammonium à 1%. La numération des plaquettes se fait au microscope en contraste de phase. Les réticulocytes sont colorés sur frottis de sang par le bleu de UNNA.

Au cours des deux premiers mois de l'expérience, la mononucléose des souris traitées ou non par le Chloramphénicol reste normale, situant entre 6.500 par mm^3 . La polynucléose varie dans les mêmes conditions entre 3.400 par mm^3 et 5.100 par mm^3 , c'est à dire reste normale chez les souris de tous les lots. La réticulocytose est normale en oscillant entre 1,5 % et 3 %. La thrombocytose chez toutes les souris, traitées ou non par le Chloramphénicol, est aussi normale en se maintenant entre 950.000 par mm^3 et 1.100.000 par mm^3 .

Isolement de la tumeur ST₄.

A la fin du deuxième mois de l'expérience, nous avons observé lors de la mort naturelle d'une des souris du Lot N°3 une splénomégalie importante chez celle-ci. Cette remarque nous a incité à tuer toutes les souris du Lot N°2 et du Lot N°3. La rate de chaque souris sacrifiée est transplantée par voie sous cutanée dans la région axillaire d'une souris swiss adulte. Ce qui fait que vingt rates prélevées sont transplantées à vingt Souris différentes. Notons que chaque rate avant l'inoculation aux Souris a été finement découpée dans du liquide de Tyrode. Au bout de quelques jours, nous voyons se développer une tumeur chez chaque Souris ayant reçu la transplantation. Les vingt tumeurs obtenues ont été suivies jusqu'à la mort des animaux, excepté la quatrième que nous prélevons avant la mort de la Souris porteuse pour effectuer la transplantation. C'est cette quatrième tumeur induite par le Chloramphénicol que nous avons conservée jusqu'à maintenant (76e transplantation) et que nous utilisons pour diverses études expérimentales faites dans ce travail. Les dix neuf autres tumeurs ont tué les Souris porteuses entre le vingtième jour et le quarantième jour de transplantation.

A la fin du troisième mois, nous avons fait pareillement pour les Souris des Lot N°1, N°4 et N°5. Les rates des Souris du Lot N°1 ont été transplantées à des Souris Swiss adultes et ont donné naissance à des tumeurs que nous n'avons pas conservées par transplantations successives. Les rates des Souris des Lots N°4 et N°5 transplantées à des Souris Swiss sont éliminées par leur hôte au bout d'une semaine sans laisser de tumeur.

B - ETUDE DE LA PATHOGENIE DU SARCOMES ST₄.

La tumeur ST₄ (figure 1), en coupe histologique, colorée à l'hémalum-éosine montre qu'il s'agit d'un réticulosarcome (figure 2). Nous la dénommons Sarcome ST₄. Le chiffre 4 indique la quatrième tumeur que nous avons choisie arbitrairement, parmi les tumeurs obtenues, pour les transplantations successives.

Le sarcome ST₄ est à l'heure actuelle à sa 76^e transplantation. La courbe de mortalité des Souris porteuses de cette tumeur (figure 2) montrent que les animaux inoculés meurent entre le 10^e J. et le 20^e jour. Si nous comparons la survie de cette tumeur chez la Souris qui a une vie moyenne de 2 ans ou $365 \times 2 = 730$ jours à celle d'un sujet humain de vie moyenne de 60 ans ou $365 \times 60 = 21.000$ jours, ce tumeur aurait tué le dernier entre 300 jours et 564 jours, c'est à dire de l'ordre de un à un an et demi. Ce fait montre que la leucémie L 1210 qui tue les Souris DBA/2 porteuses en 7 jours semble trop sévère pour les essais chimiothérapiques, tandis que le sarcome 180 ou l'adénome 755 paraissent peu virulents pour de tels essais. Nous pensons incorporer le Sarcome ST₄ dans la triade des tumeurs constituées classiquement pour le triage de nouvelles substances chimiothérapiques à savoir la leucémie L 1210, le sarcome 180 et l'adénocarcinome 755 (109) (112).

Au 12^e jour de transplantation, la tumeur qui s'est développée des deux côtés de la région axillaire a un poids total de 3 grammes environ, est prélevée et incisée en fins morceaux dans du liquide de Tyrode ou de soluté salin isotonique, à raison de 2 ml de liquide pour un gramme de tumeur. On inocule 0,5 ml de cette suspension dans chaque côté de la région axillaire d'une Souris Swiss adulte. Dans des cas où une nécrose apparaît au point d'inoculation, c'est la splénomégalie qui prédomine et tue la Souris porteuse comme s'il s'agit d'une tumeur normalement obtenue. Si c'est le sarcome qui se développe normalement sans nécrose précoce, l'animal aura sa rate restée presque à l'état normal au jour de sa mort.

L'injection de Chloramphénicol à de fortes doses (50 mg à 80 mg par kilo) pendant une période de 3 mois ne donne par le même phénomène aux Souris de lignée DBA₂ aux Souris hybrides C₅₇ Bl₆ X DBA₂.

Un autre antibiotique tel que la Streptomycine ne donne pas ce processus malin chez des Souris Swiss, ni chez des Souris de lignée DBA₂, de lignée C₃H ou hybrides C₅₇ Bl₆ X DBA₂.

La tumeur ST₄ que nous avons isolée et conservée par transplantations successives est spécifique de la lignée Swiss et de la lignée C₃H. En effet, des essais de transplantation de cette tumeur à des Souris d'autres lignées (DBA₂, Hybrides C₅₇ Bl₆, DBA₂) donnent des résultats négatifs. Cette spécificité est d'autant plus remarquable que si la prise de greffe est de l'ordre de 80 à 90 %

chez des Souris Swiss consanguines où cette tumeur a été induite, elle tombe à 25 % chez des Souris Swiss provenant d'un stock, c'est à dire sans consanguinité.

L'examen hématologique montre qu'il y a une très forte polynucléose aux jours qui précèdent la mort des Souris et que la mononucléose ainsi que la thrombocytose restent sensiblement inchangées. (figures 4, 5 et 6). Nous observons des différences remarquables avec la leucémie L 1210 au point de vue hématologique. La moelle reste normale.

C - CULTURE DES CELLULES TUMORALES DE SARCOME ST₄.

Le sarcome ST₄ se prête aisément à la culture in vitro. Nous avons utilisé le milieu semi-synthétique à l'hydrolysate de caséine de LEPINE, SLISEZEWICZ, DANIEL et PACCAUD pour cultiver cette tumeur préalablement découpée, lavée et trypsinisée. La composition du milieu de culture utilisé est la suivante :

Hydrolysate de caséine	50 ml
Bicarbonate de sodium à 55% additionné de rouge neutre.....	20 ml
Sérum de poulain filtré	50 ml
Pénicilline	100.000 unités
Dihydromycine	0,05 g.

1 g de tumeur prélevée au 12^e jour de transplantation est trypsinisée dans une solution de trypsine à 0,125 % dans du liquide de HANKS. La trypsinisation dure environ une demi-heure à la température de 37°C sous agitation magnétique. 0,1 ml de suspension de cellules tumorales obtenues est introduit dans chacun des tubes à essais à fond plat contenant une lamelle de dimensions 12 mm x 32 mm, renfermant 2 ml de milieu de culture à l'hydrolysate de caséine. un certain nombre de cellule se multiplient sur la lamelle, en couche mono-cellulaire. Le lendemain, on rejette le milieu de culture pour éliminer excès de cellules non déposées. Cette technique permet la coloration directe in situ des cellules fixées sur ces lamelles par la méthode de MAY-GRUNWALD et GIEMSA. Nous observons après coloration des cellules de type fibroblastique à nombreuses inclusions cytoplasmiques (figure 7).

D - CONSERVATION DES TUMEURS AUX BASSES TEMPERATURES VOISINES DE -80°.

La nécessité de constituer une banque de tumeurs pour les études expérimentales nous a incité à étudier les conditions de refroidissement pour préserver les cellules tumorales contre le choc lors de la descente de la température aux environs de -80° (111) (113

Nous avons monté au cours de ce travail un appareil destiné à contrôler à chaque instant la descente de température (figure 8). Cet appareil (figure 9) comporte essentiellement une source de froid alimentée à l'aide de carboglace ou d'azote liquide (récipient S comportant un serpentín qui communique avec une chambre C où l'on met les produits à congeler). La température de cette chambre est contrôlée par une thermosonde qui est en relation avec un thermosistor constitué essentiellement d'un pont de WHEASTONE et permettant d'indiquer à chaque instant la température de la chambre C. Le thermosistor est commandé par un système de programmation P qui donne un programme de vitesse de descente de température en fonction du temps. Lorsque la température indiquée à chaque instant par la thermosonde est inférieure d'une quantité Δt à celle indiquée par le programmateur, un relai électronique r met en marche la circulation de liquide dans le système grâce à une pompe à circulation P contenue dans la cuve C remplie d'alcool méthylique ou éthanol. Le liquide qui traverse alors la source S à travers le serpentín apporte le froid nécessaire dans la chambre C dont la température est comme on sait contrôlée à chaque instant par la thermosonde.

Mode opératoire :

On met en suspension des cellules tumorales dans le liquide de Tyrode additionné de 15 % de glycéról. Ces suspensions sont réparties dans des ampoules qui seront scellées à la flamme. On introduit ces ampoules dans le récipient E pour subir le refroidissement contrôlé. La courbe de refroidissement obtenu avec notre dispositif est donnée par la figure. On fait une numération de cellules viables avant et après le refroidissement à -70°C . Nous utilisons pour cela le test à l'éosine de SCHREK (103). Les cellules tumorales, selon cette technique, sont mises en suspension dans une solution à 0,125 % d'éosine pour la numération dans une cellule de MALASSEZ. Les cellules tuées sont colorées par l'éosine alors que les cellules vivantes ne laissent pas pénétrer le colorant à travers la membrane et restent par conséquent incolores. Nous avons utilisé pour cette expérience les cellules leucémiques L 1210 et les cellules du sarcome ST₄. La courbe de descente de température contrôlée par notre appareil est donné par la figure 10.

E - DISCUSSIONS :

Le pourcentage de tumeurs obtenues par injections de Chlo-ramphénicol aux Souris Swiss durant la première expérience, de l'ordre de 100 %, nous a étonné, car le résultat nous semblait trop beau. Cependant les témoins non traités ou ayant reçu des injections de sérum physiologique donnent tous des résultats négatifs. D'autre part, nous avons trouvé un travail de MURPHY (92) qui a signalé avoir observé dans un élevage de Souris SJL/J une incidence

de réticulosarcome de l'ordre allant jusqu'à 80 %. Nous avons comparé le sarcome ST₄ à la maladie causée par le virus FRIEND. En effet le sarcome ST₄ et la leucémie FRIEND sont tous les deux issus de Souris Swiss adultes et transplantables à des Souris de cette lignée. D'autre part, la partie acellulaire obtenue après centrifugation du sarcome ST₄ et la leucémie FRIEND reste pathogène pour les souris Swiss.

Toutefois nous avons observé les différences suivantes entre ces deux tumeurs :

a - le sarcome ST₄ est strictement spécifique des Souris Swiss et des Souris C₃H₄ alors que le virus FRIEND est aussi pathogène pour d'autres lignées de Souris.

b - la mortalité chez les Souris Swiss due au virus FRIEND se situe entre le 2e et le 3e mois (54), tandis que celle due au sarcome ST₄ a lieu dès le 10e jour ou tout au plus au 20e jour.

c - on sait que la cancérigénèse donnant naissance au virus FRIEND a été faite avec un matériel cellulaire exogène (cellules de tumeurs d'Ehrlich), tandis que la cancérigénèse obtenue avec le chloramphénicol chez des Souris Swiss semble être d'origine endogène puisque le matériel injecté est stérile et non cellulaire.

d - le virus FRIEND produit chez les Souris Swiss une maladie d'allure leucémique avec splénomégalie alors que la tumeur ST₄ est un réticulosarcome avec splénomégalie accompagné de fortes réactions de polynucléose.



Figure 1.

A gauche : Souris Swiss normale
A droite : Souris Swiss porteuse de
sarcome ST_4 .

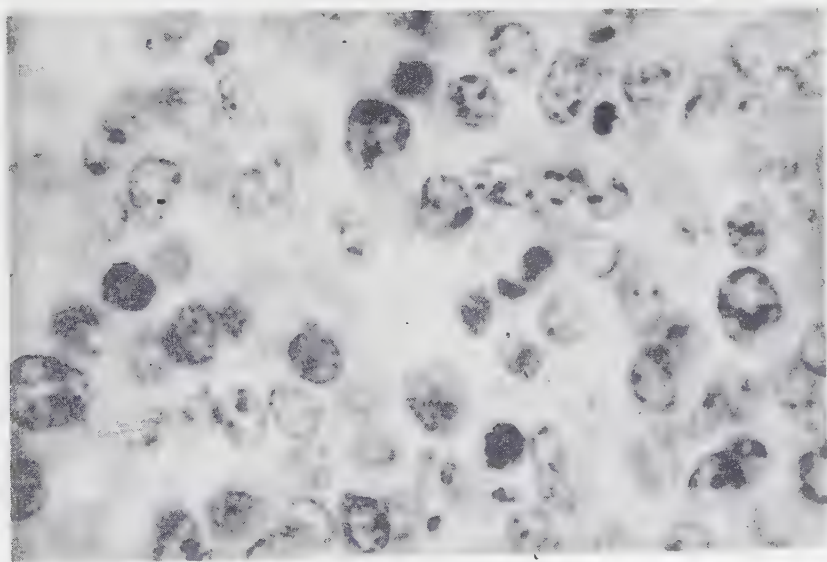


Figure 2. Coupe histologique de Sarcome ST_4 .

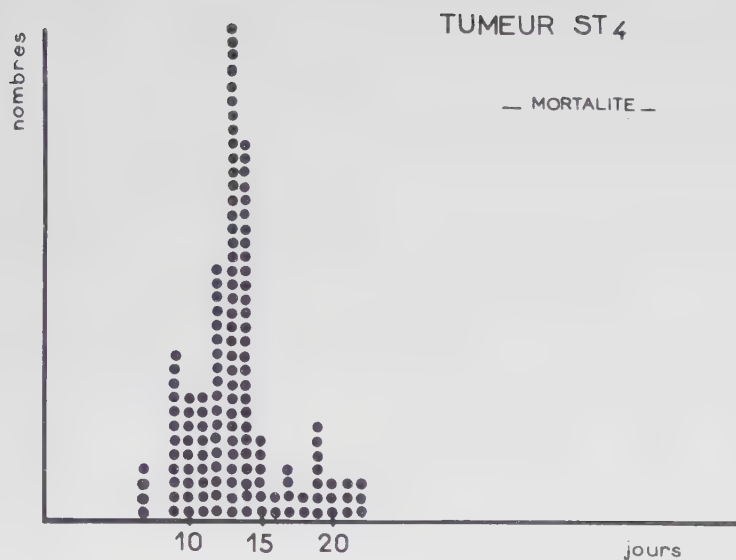


Figure 3.

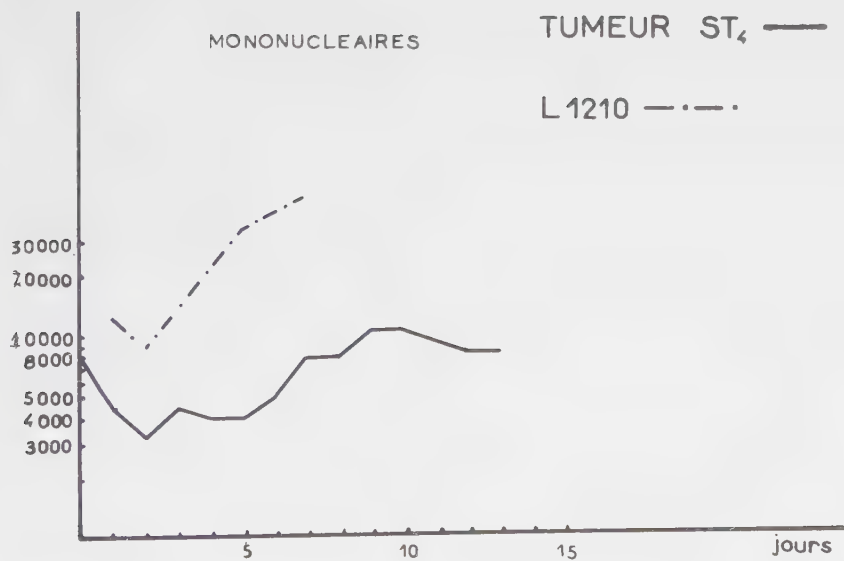


Figure 4.

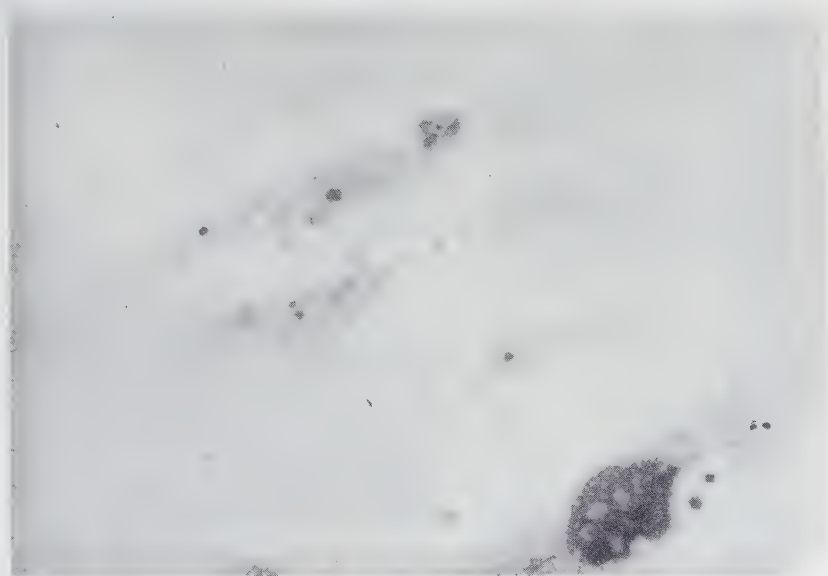


Figure 7. Sarcome ST₄ cultivé in vitro.

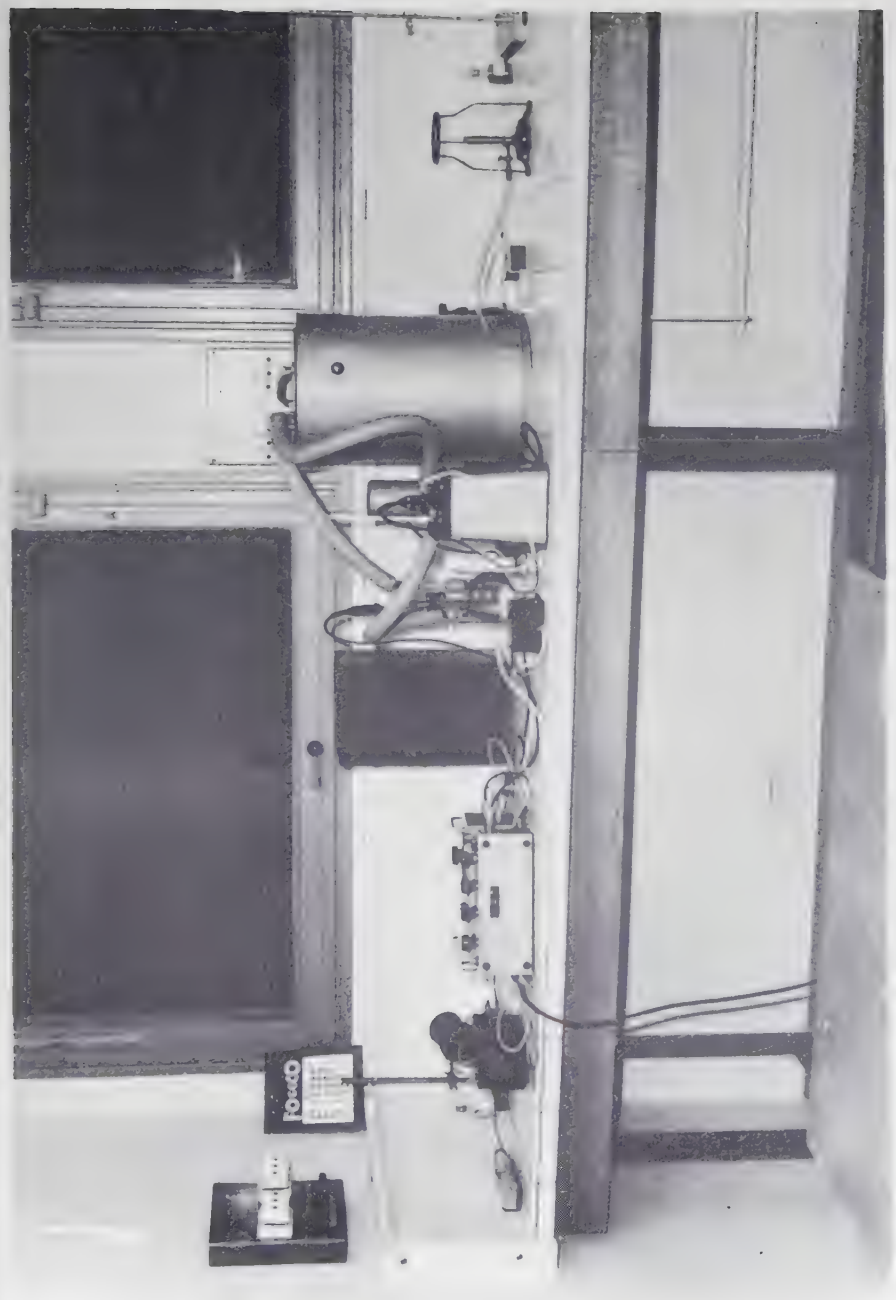


Figure 8. Appareil d'abaissement controle de temperature à -80°C avec système de programmation électronique.

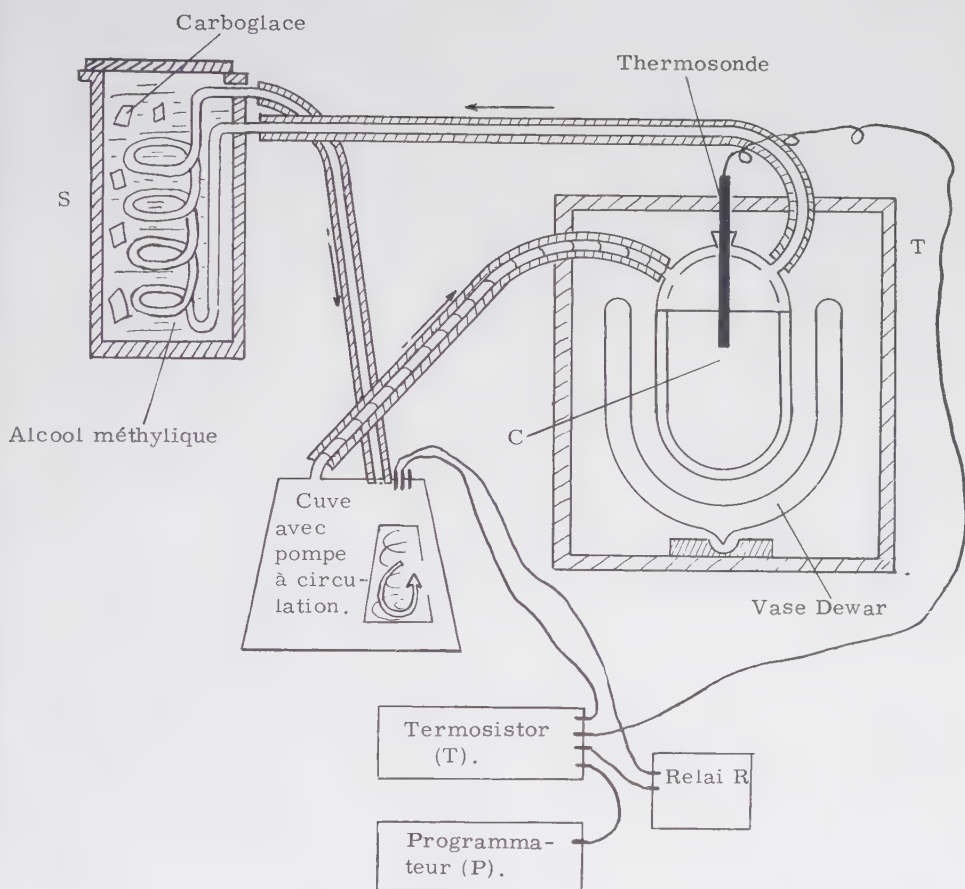
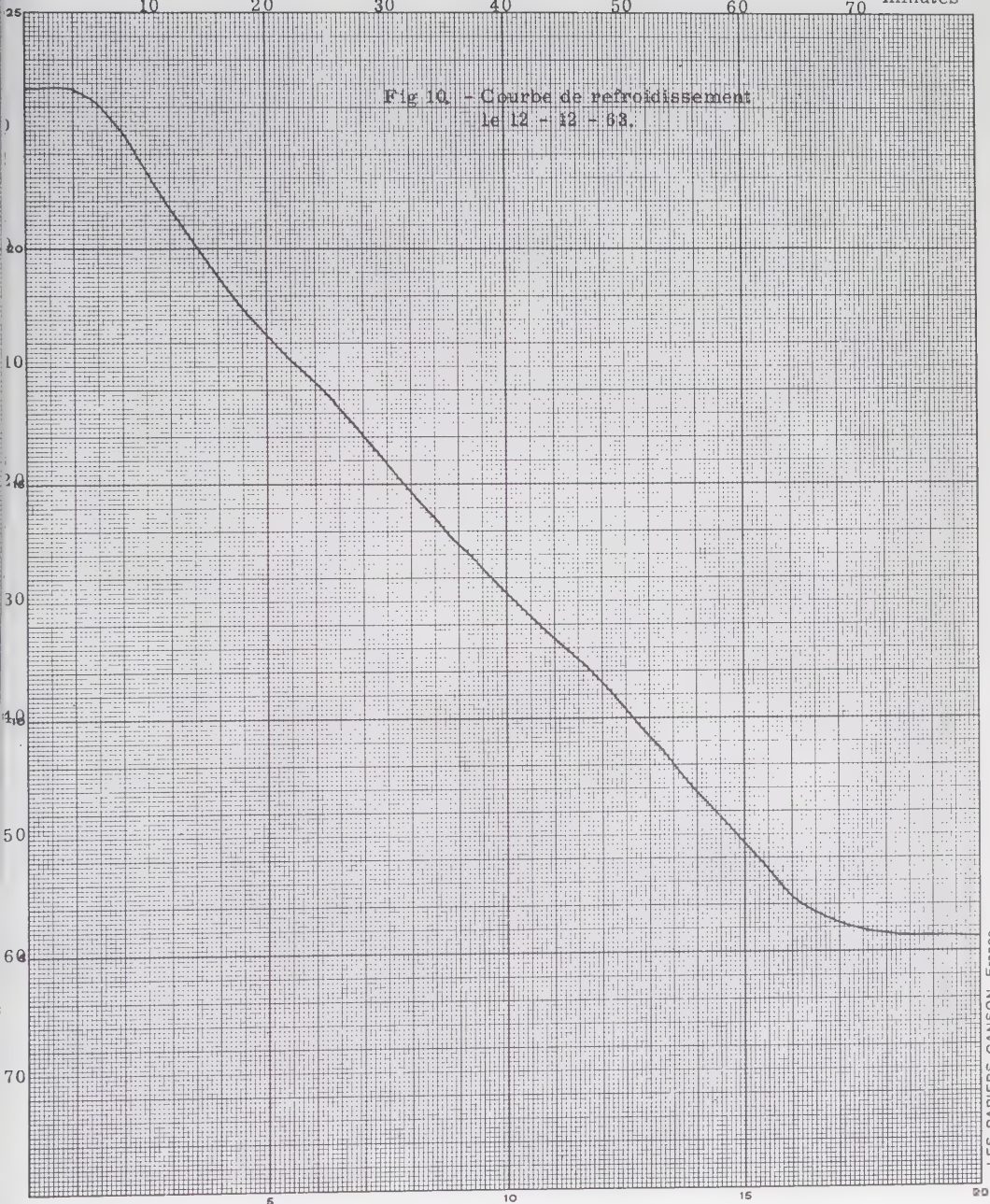


Figure 9



Temps en
minutes

Fig 10. - Courbe de refroidissement
le 12 - 12 - 63.





TROISIEME PARTIE

ETUDE DES ACIDES NUCLEIQUES ISOLÉS DES TUMEURS.



PLAN DE LA TROISIEME PARTIE

oOo

- I - Généralités sur la structure des acides nucléiques
- II - Isolement de l'acide désoxyribonucléique et de l'acide ribonucléique du Sarcome ST₄.
- III - Mise au point d'une nouvelle méthode de déprotéinisation de l'acide ribonucléique utilisant le carvacrol.
- IV - Etude comparée des spectres aux rayons ultra-violets des acides nucléiques isolés des cellules normales et cancéreuses.



I - GENERALITES SUR LA STRUCTURE DES ACIDES NUCLEIQUES.

A - Structure primaire

Dans la cellule, les acides nucléiques existent sous forme de nucléoprotéines qui font partie des hétéroprotéines. Par dissociation, ces nucléoprotéines donnent une fraction non protéinique qui est l'acide nucléique et une fraction holoprotéinique constituée de protamines ou histones.

L'acide nucléique par hydrolyse complète libère des bases puriques et pyrimidiques, de l'acide phosphorique et un sucre. Ce sucre est soit l'acide ribose dans le cas d'acide ribonucléique soit le désoxyribose dans le cas d'acide désoxyribonucléique.

La liaison d'un sucre, ribose ou désoxyribose, avec une base purique ou pyrimidique, donne un nucléoside. L'ester phosphorique d'un nucléoside est un nucléotide. C'est à partir des nucléotides qui existent à l'état libre dans les organismes vivants que sont synthétisés les acides nucléiques.

Nomenclature :

On représente les nucléosides par l'initiale de la base : A = adénine ; G = guanine ; C = cytosine ; U = uracile ; T = thymine. Selon la base on a un nucléoside qui peut être l'adénosine, la guanosine, la cytidine, l'uridine ou la thymidine. Les nucléotides correspondants seront ; l'acide adénylique, l'acide guanylique, l'acide cytidilique, l'acide uridylique et l'acide thymidilique qu'on représente par les symboles AMP, GMP, CMP, UMP, TMP, (c'est-à-dire adénosine monophosphate, guanosine monophosphate, cytidine monophosphate, uridine monophosphate ou thymidine monophosphate). Lorsqu'il s'agit de nucléotides de l'ADN, on désoxyribonucléotides, on utilise les symboles d'AMP, d'GMP, d'CMP, d'UMP, ou d'TMP.

Il y a deux modes de représentation des nucléotides :

Premier mode :

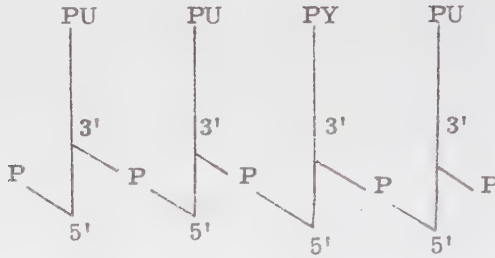
Si la lettre P représentant l'acide phosphorique est placée à la droite du symbole du nucléoside, elle indique que l'hydroxyle en 3' du sucre est estérifiée ; si la lettre P est à gauche du symbole du nucléoside, l'hydroxyle en 5' du sucre est estérifiée.

Exemple : p A p C p G U p

Deuxième mode :

On représente la chaîne carbonée du pentose par un trait vertical. A l'extrémité supérieure de ce trait, on met la nature de la base (PU = purique, PY = pyrimidique). On représente la liaison diester phosphorique par un trait diagonal qui joint l'extrémité du trait vertical (hydroxyle 5') au tiers inférieur du trait vertical voisin (hydroxyle 3').

On a le schéma :



B - Structure secondaire de l'acide désoxyribonucléique ou ADN

Grâce à la technique de diffraction aux rayons X, PAULING et COREY (94), et surtout WATSON et CRICK (117) ont proposé le schéma, (figures 11 et 12) devenu classique, selon lequel la molécule de l'ADN est composée de deux chaînes polynucléotidiques coaxiales enroulées en hélice autour d'un axe, ces deux hélices étant de polarité opposée.

D'après ce schéma, les groupes phosphates sont situés à l'extérieur et les bases à l'intérieur. Les bases se relient entre elles par des liaisons hydrogènes. On note par exemple deux liaisons hydrogènes entre l'Adénine et la thyronine, et trois liaisons hydrogènes entre la guanine et la cytosine. L'ADN riche en guanine - cytosine est donc particulièrement stable.

a - Préparation de l'acide désoxyribonucléique

Nous utilisons la technique de MIRSKY et POLLISTER modifiée par VENDRELY et VENDRELY (Bull. Ass. Franç. Et. Cancer, 1960, 47, 254).

Matériel et méthodes :

Les tissus normaux ou cancéreux sont prélevés et refroidis immédiatement à la température voisine de 4°C à l'aide d'un mélange de carboglace et d'alcool méthylique. On utilise pour l'isolement des acides nucléiques la technique de MIRSKY et POLLISTER modifiée par VENDRELY et VENDRELY. On homogénéise les tissus à l'aide d'un homogénéiseur VIRTIS dans une solution de ClNa 0,14 M à raison de 4 volumes pour un volume de tissus frais. Cette solution de ClNa est additionnée au préalable de citrate de sodium 0,1 M. On centrifuge à 10.000g pendant 30 minutes. Le matériel nucléaire séparé est lavé par une solution de ClNa 0,14M contenant 0,1M de citrate de sodium. On centrifuge à nouveau à 10.000 g pendant 30 minutes pour séparer le liquide surnageant contenant l'acide nucléique. Le sédiment contenant les débris cellulaires riches en acide désoxyribonucléique est additionné d'une solution de ClNa, M contenant 0,1 M de citrate de sodium à raison de 6 volumes pour un volume de tissus frais. Cette suspension est mise sous agitation magnétique dans une chambre froide pendant 12 heures consécutives. La solution saline de nucléohistones obtenue est centrifugée à 40.000 g pendant 2 heures. On procède alors à la saturation en sel du surnageant pour la séparation de l'histone. On laisse en contact pendant 10 jours à 2°C. On centrifuge enfin à 78.000 g pendant 2 h. On obtient après cette centrifugation un liquide visqueux trouble qui, par addition de deux volumes d'éthanol donne un précipité de fibres d'acide désoxyribonucléique fortement imprégné de ClNa. On redissout ces fibres par agitation dans 400 ml d'eau distillée. Puis on centrifuge à 78.000 g pendant une heure. A la fin de la centrifugation, on reprécipite l'acide désoxyribonucléique par une nouvelle addition de deux volumes d'éthanol. On redissout les fibres formées dans 125 ml de ClNa M. On met la solution en dialyse pendant 24 heures en chambre froide contre une solution de ClNa 0,14M. On répartit en ampoules et lyophilise.

b - Préparation de l'acide ribonucléique

Nous utilisons la méthode de MIRSKY et POLLISTER pour l'isolement des ribonucléoprotéines. La déproténisation a été faite par la technique de GIERER et SCHRAM au moyen de phénol.

Les cellules cancéreuses sont refroidies dans un mortier immergé dans un mélange de carboglace et méthanol, puis homogénéisées dans une solution de ClNa 0,14 M contenant 0,01 M de citrate de sodium (ajusté à pH = 7).

On enlève les débris cellulaires par centrifugation à 10.000g pendant 20 minutes. On filtre.

L'acide ribonucléique de la partie cytoplasmique est obtenu par traitement des ribonucléoprotéines à l'aide du phénol par la méthode de GIERER et SCHRAM.

Le rendement est de 1 à 1,5 g de RNA par 100 g de tumeur

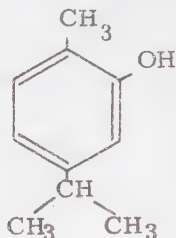
Le rapport $\frac{N}{P}$ est de 1,6 à 1,7.

Les réactions au biuret sont négatives.

c - Mise au point d'une nouvelle méthode de déprotéinisation de l'acide ribonucléique utilisant le carvacrol :

L'acide ribonucléique biologiquement actif ou non est classiquement préparé à partir de ribonucléoprotéines par traitement au moyen de phénol. Mais il s'avère que cette méthode est assez dénaturante, de sorte que nombreux virus à acide ribonucléique ne peuvent être purifiés par ce réactif.

Dans le cadre général de nos recherches sur la modification chimique des acides nucléiques (114), il nous a paru indispensable de mettre au point une technique moins dénaturante que celle utilisant le phénol. Nous utilisons dans ce but le carvacrol, qui est un dérivé du phénol, mais à la différence de celui-ci, est liquide à la température ordinaire et non miscible à l'eau. Comme le phénol, le carvacrol est très soluble dans l'éther, ce qui permet son extraction par ce solvant organique pour son élimination après la purification des acides nucléiques. Le carvacrol a pour formule :



C'est un liquide qui présente une réaction beaucoup moins acide que le phénol. En outre son insolubilité dans l'eau permet la purification sans perte notable d'acide nucléique et facilitant les différentes phases d'extraction.

Matériel et méthodes :

Les tissus normaux ou tumoraux sont refroidis immédiatement après incision à la température de 2-4°C à l'aide d'un mélange de méthanol et de carboglace, et sont homogénéisés dans une solution de 0,14 M ClNa contenant 0,01 M de citrate de sodium.

On centrifuge à 10.000 g pendant 20 minutes pour éliminer les débris cellulaires. Le surnageant des ribonucléoprotéines dissout dans la solution de 0,14M ClNa est traité par le carvacrol à la température situant entre 2 et 4°C. Pour cela, on ajoute à un volume de ce surnageant deux volumes de carvacrol. On agite à l'agitateur magnétique pendant 15 minutes dans la chambre froide réglée à 3°C. Au moyen d'une centrifugeuse refroidie, on centrifuge à raison de 6.000g par minute pendant 20 minutes. Il se forme alors après centrifugation trois couches : a) une couche supérieure constituée de carvacrol ; b) une couche moyenne contenant des protéines précipitées par le carvacrol ; c) une couche inférieure contenant l'acide ribonucléique dissous dans la solution de 0,14 M ClNa. A l'aide d'une ampoule à décantation, on isole la couche inférieure à laquelle on ajoute trois volumes d'éther sulfurique (sans peroxyde). Ce traitement à l'éther permet d'enlever les traces de carvacrol par l'éther. L'éther est ensuite éliminé par centrifugation et décantation. Cette extraction de l'excès de carvacrol par l'éther doit être répétée 3 fois successives. La solution de 0,14 M ClNa peut contenir après ce traitement à l'éther un peu de protéines précipitées, qu'on élimine par centrifugation. On débarasse enfin les traces d'éther de cette solution saline d'acide ribonucléique par barbotage d'azote exempté d'oxygène. Cette dernière opération s'effectue aussi à la température de 2-4°C.

La solution d'acide ribonucléique ainsi déprotéinisé présente une réaction de biuret négative, un rapport azote sur phosphore égale à 1,6-1,7. Dans les mêmes conditions d'isolement, les acides ribonucléiques purifiés par le phénol donnent les mêmes rapports azote sur phosphore. La solution d'acide ribonucléique déprotéinisé par le carvacrol présente un spectre d'absorption aux rayons ultra-violet avec un maximum à 2.600 angström.

En utilisant cette nouvelle méthode que nous avons mise au point nous avons isolés les acides ribonucléiques des tissus normaux et cancéreux suivants : Rate normale de Souris Swiss et de Souris C₃H, thymus de veau et thymus d'agneau ; sarcome ST₄ que nous avons induit chez des Souris Swiss par injection de Chl₄oramphénicol à haute dose et d'une manière répétées ; leucémie L 1210 ; carcinome mammaire de Souris C₃H. Les divers acides ribonucléiques obtenus présentent tous un spectre d'absorption aux rayons ultra-violet caractéristiques avec un maximum à 260 mμ (figure 17). Nous avons comparé aussi leur viscosité (figure 18).

Nous appliquons cette méthode utilisant le carvacrol à d'autres acides ribonucléiques ou désoxyribonucléiques biologiquement actifs, et en particulier aux essais d'isolement des virus de leucémies et de cancers humains.

II - ETUDE COMPAREE DES SPECTRES AUX RAYONS ULTRA-VIOLETS DES ACIDES RIBONUCLEIQUES ET DESOXYRIBONUCLEIQUES ISOLES DES CELLULES NORMALES ET CANCEREUSES.

Afin de trouver une méthode physique permettant de comparer les divers acides nucléiques provenant de différents tissus, normaux ou pathologiques, et les acides nucléiques que nous aurons modifiés chimiquement, il nous a paru intéressant d'étudier leur spectre aux rayons ultra-violet et leur spectre de résonnance magnétique nucléaire.

Pour les mesures des spectres, nous avons utilisé une quantité aliquote contenant une quantité donnée de Phosphore. Nous avons étudié les spectres des acides désoxyribonucléiques isolés de rate normale, de rate de Souris C_3H , de thymus de veau, de thymus d'agneau, de rate de Leucémie 1³1210, de tumeur mammaire C_3H , et de tumeur ST_4 .

Nous avons également étudié ceux des acides ribonucléiques isolés de levure de bière, de rate normale, de thymus d'agneau, de thymus de veau, de leucémie L 1210, de tumeur mammaire C_3H , et de tumeur ST_4 . Les spectres aux rayons ultra-violet présentent des différences notables d'absorption (voir courbes ci-jointes). Par contre, les spectres aux rayons ultra-violet des acides ribonucléiques ne donnent pas de courbes d'absorption très différentes les unes des autres.

Les tissus normaux ou cancéreux utilisés pour les extractions d'acides nucléiques sont : rate de Souris Swiss et de Souris C_3H normales, thymus de Veau, thymus d'Agneau, *Mytilus edulis* ou Moules, *Ostrea edulis* ou Huitres, tumeur mammaire C_3H , sarcome ST_4 , leucémie L 1210 (rate de Souris DBA_2 porteuse de cette leucémie et tumeur).

Nous avons effectué des spectres d'absorption aux rayons ultra-violet des acides désoxyribonucléiques, dont les résultats sont résumés dans les figures 13 et 14 qui montre des différences d'absorption évaluée en densité optique. Les maxima d'absorption aux environs de 2600 Å pour chaque acide désoxyribonucléique est donné par le tableau suivant :

	2450Å	2500Å	2550Å	2600Å	2650Å	2700Å	2750Å	2800Å
Rate de Souris Swiss	0,88	1,07	1,08	1,10	1,0	0,93	0,80	0,62
Rate de Souris C ₃ H	0,18	0,19	0,20	0,19	0,18	0,17	0,16	0,15
Thymus de Veau	0,22	0,23	0,24	0,25	0,21	0,20	0,17	0,13
Thymus d'Agneau	0,20	0,22	0,25	0,26	0,25	0,23	0,20	0,17
Moules	0,10	0,11	0,12	0,13	0,12	0,11	0,10	0,09
Huitres	0,07	0,09	0,12	0,15	0,15	0,14	0,12	0,10
Tumeur mammaire C ₃ H	0,50	0,53	0,55	0,57	0,54	0,50	0,42	0,32
Sarcome ST ₄	0,51	0,61	0,68	0,72	0,73	0,65	0,50	0,41
Leucémie L 1210 (rate)	0,71	0,81	0,87	0,88	0,83	0,73	0,62	0,51
Leucémie L 1210 (tumeur)	0,34	0,34	0,45	0,40	0,39	0,34	0,30	0,24

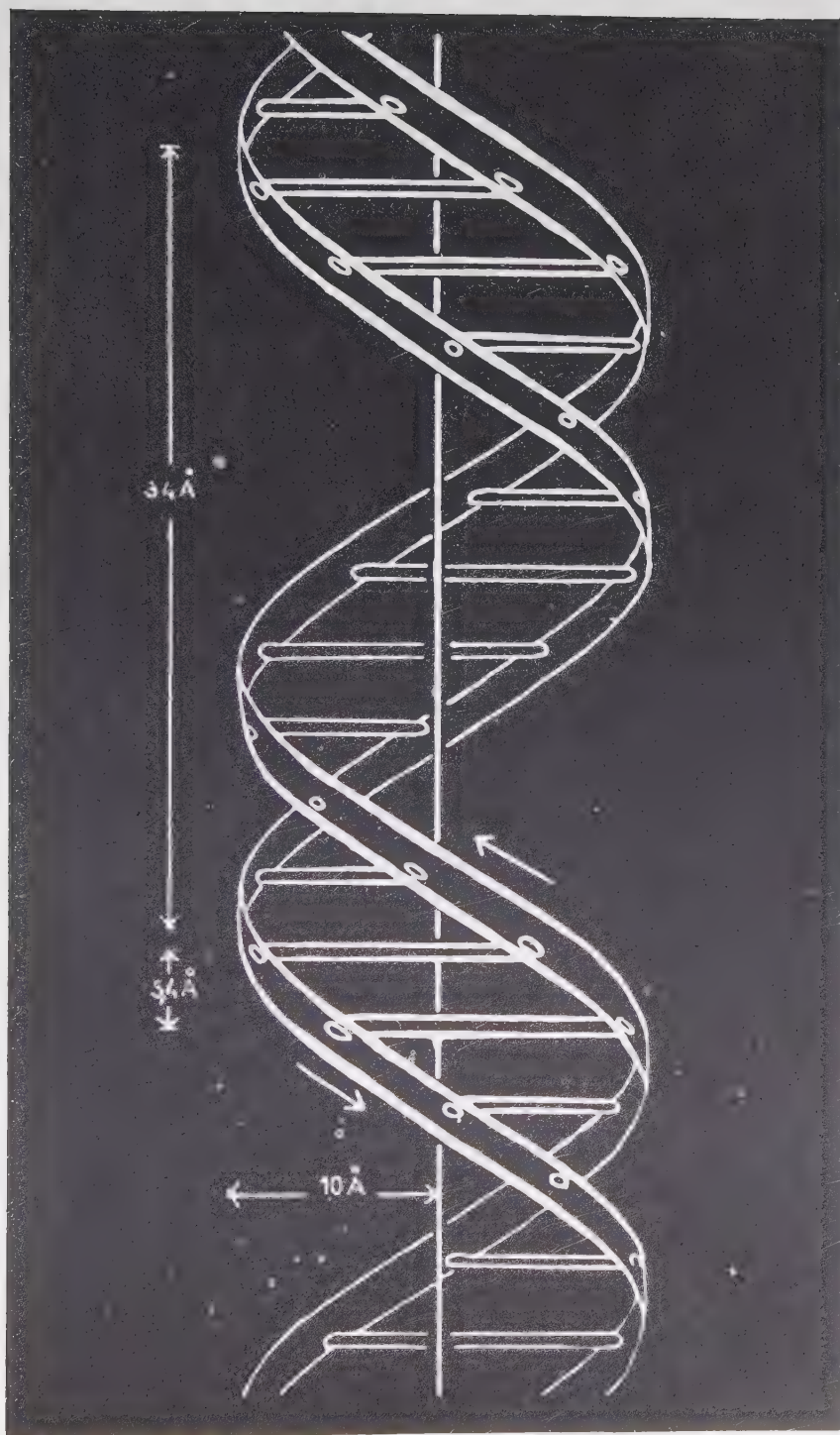
Toutes ces mesures ont été faites avec des échantillons contenant 0, 10 γ de phosphore par millilitre (figure 15). En ce qui concerne les acides ribonucléiques, les échantillons contenant 0, 1 γ phosphore ne montrent pas de différences de spectres notables (figure 16). Les maxima d'absorption donnent en effet des densités optiques situant entre 0, 15 et 0, 20 environ.

Nous avons répété ces mesures de spectres avec les acides nucléiques obtenus par une nouvelle méthode de déprotéinisation utilisant le carvacrol, réactif moins dénaturant que le phénol, que nous avons mise au point. Les résultats sont les mêmes.

Quand aux spectres de résonnance magnétique nucléaire, (figure 19), ils donnent deux maxima pour les divers acides désoxyribonucléiques étudiés, mais ne montrent aucune différence interprétable et permettant de les différencier les uns des autres. Les acides ribonucléiques présentent deux maxima plus accentués, qui ne sont pas cependant caractéristiques pour les divers acides ribonucléiques étudiés. Nous pensons que les électrons célibataires qui permettent la résonnance magnétique nucléaire sont "noyés" dans les macromolécules, et ne subissent pas l'influence des ondes hertziennes incidentes comme dans le cas des molécules chimiques plus petites. (Nous remercions vivement M. THEOBALD de l'Institut de Chimie de Besançon d'avoir effectué ces spectres.)

Conclusions :

Les spectres d'absorption aux rayons ultra-violets des acides désoxyribonucléiques pour les Invertébrés et Vertébrés étudiés présentent des différences significatives, alors que les acides ribonucléiques correspondants ne donnent pas de différence notable dans les mêmes conditions. Ces résultats ouvrent une base nouvelle pour la classification des espèces selon un critère moléculaire et non selon les critères morphologiques et physiologiques comme il a été classiquement. D'autre part, l'étude approfondie des structures des acides nucléiques pourrait permettre l'explication de certaines modalités d'évolution des êtres organisés.



Structure de l'ADN selon WATSON et CRICK.

Figure 11

Figure 12.



Modèle moléculaire
de l'acide désoxyribo-
nucléique des Vertébrés.

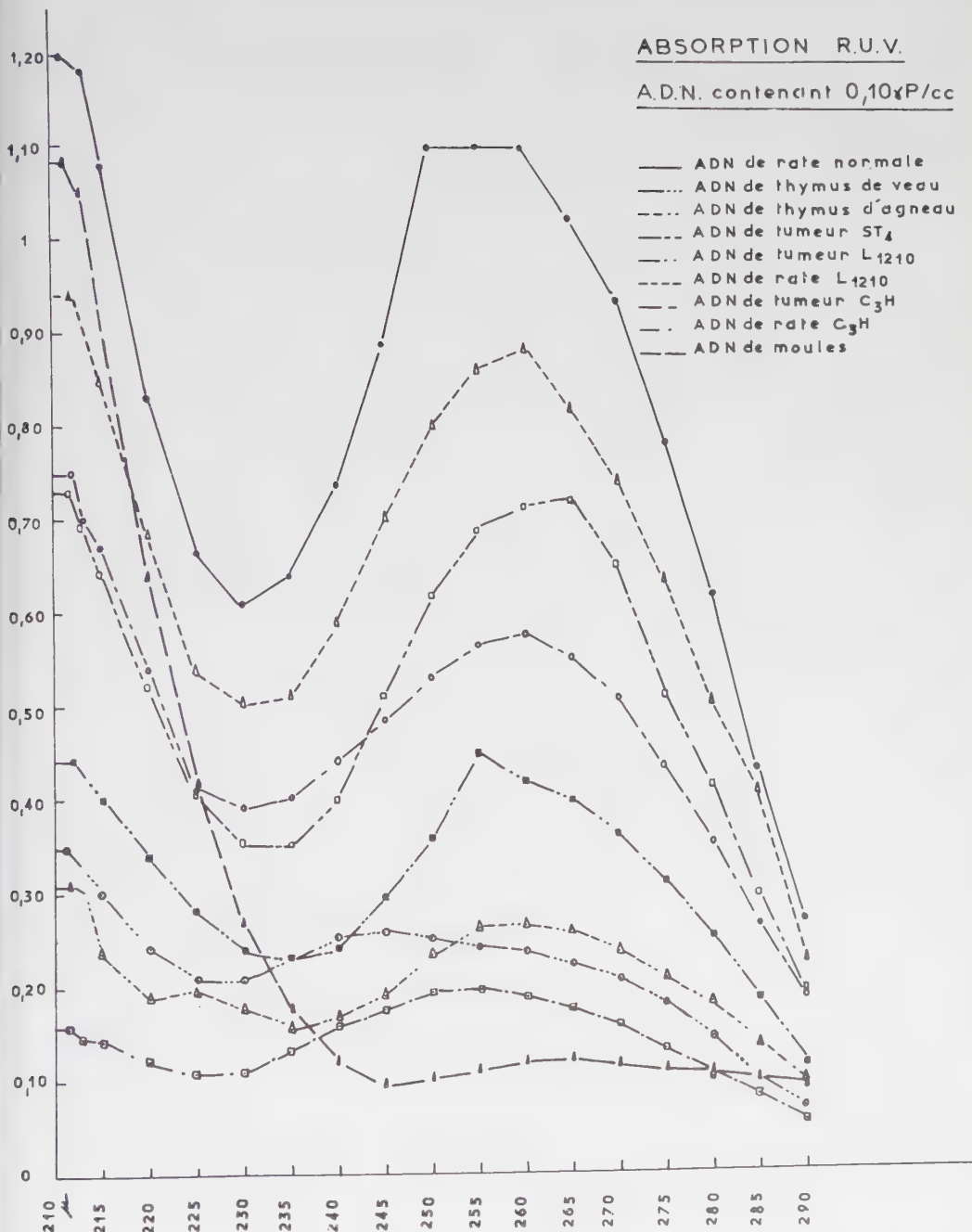


Figure 14

ARN
DOSAGE PHOSPHORE

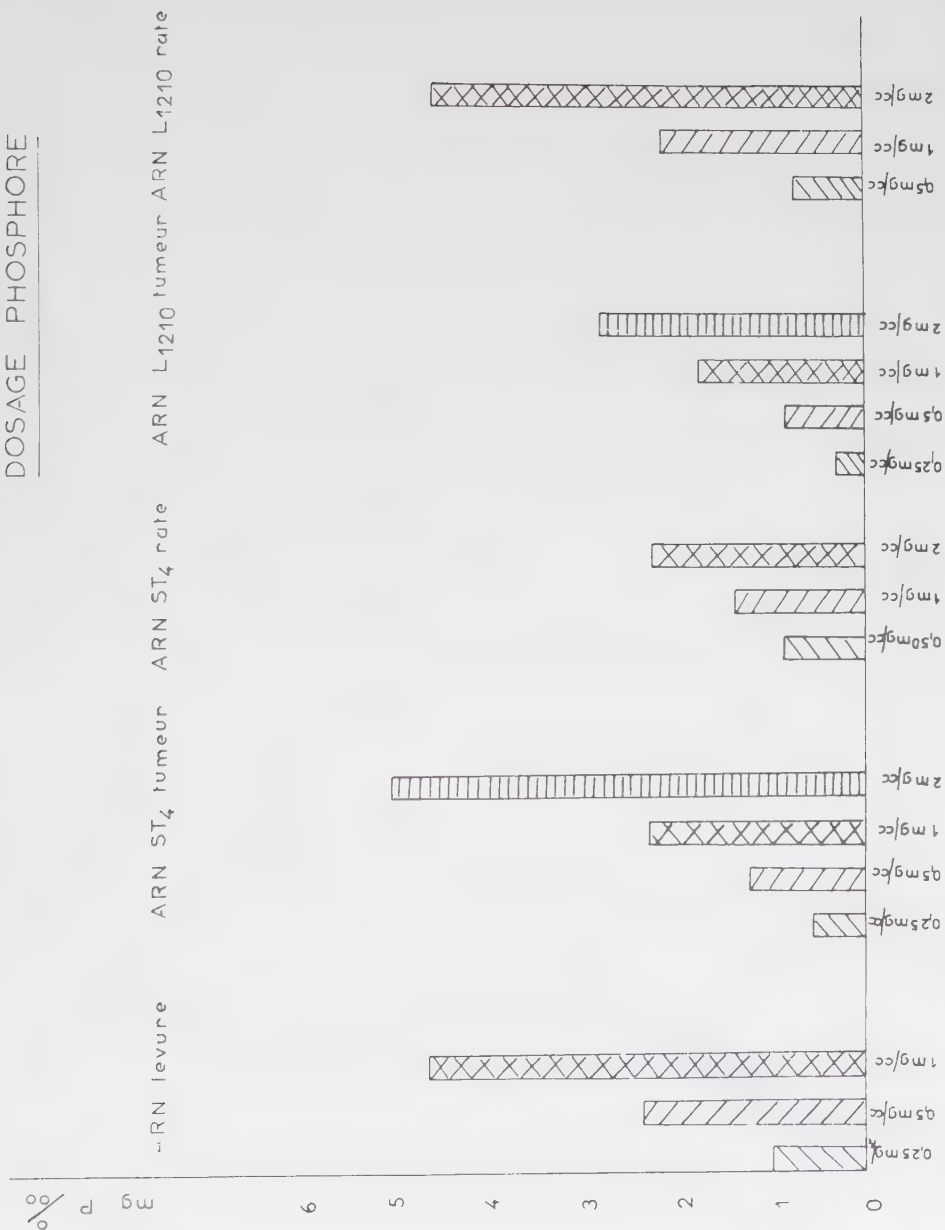


Figure 15.

ABSORPTION R.U.V.

A.R.N. contenant 0,10 % P/cc

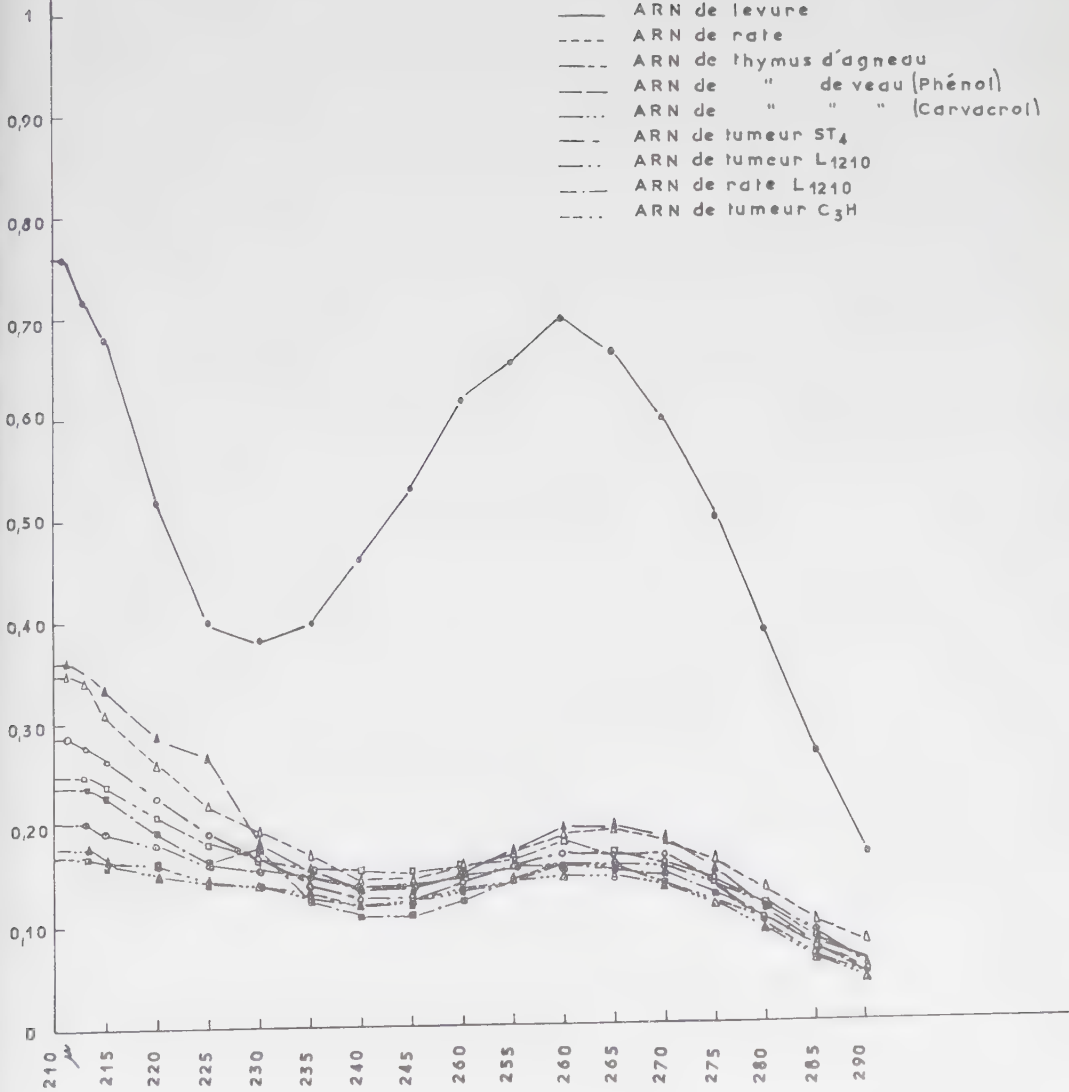


Figure 16

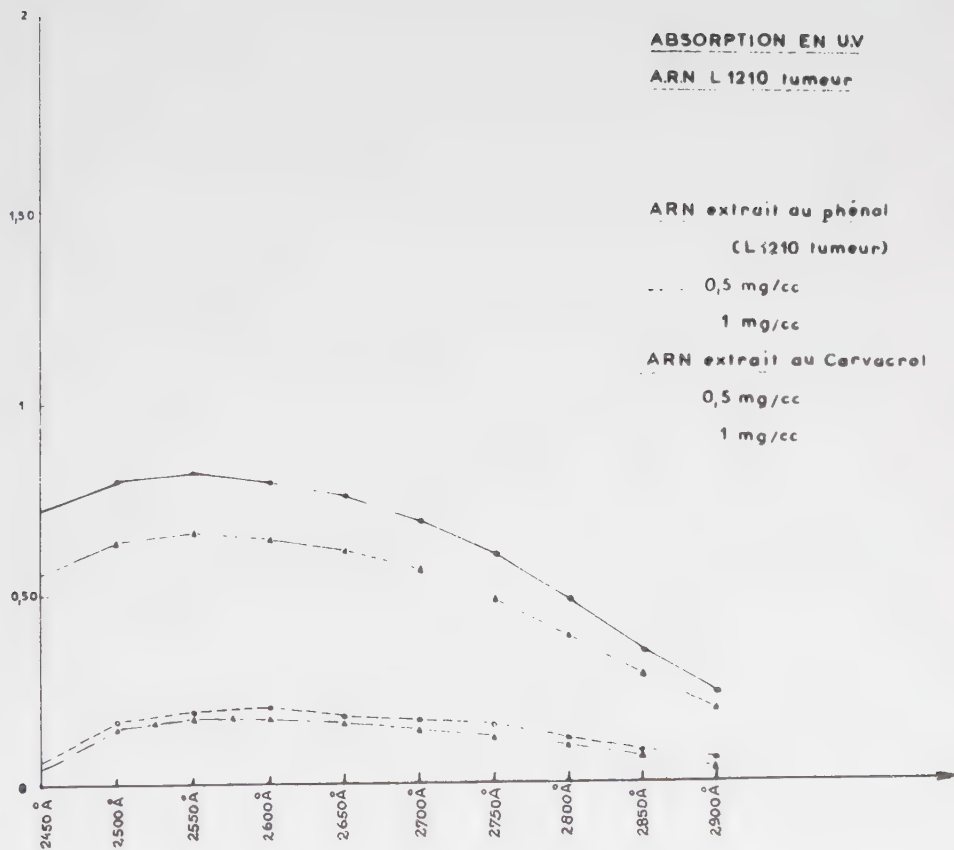


Figure 17.

VISCOSITE A.R.N.

(extraction au Carvacrol)

- ARN lumeur L1210
- ARN rate L1210
- ARN lumeur ST₄
- ARN rate ST₄

Viscosité cP

2

190

180

170

160

150

140

130

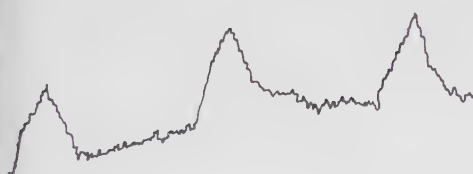
120

110

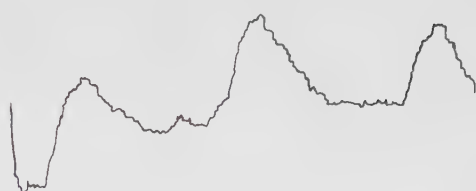
1

Figure 18.

SPECTRES DE RÉSONANCE ÉLECTRONIQUE NUCLÉAIRE.



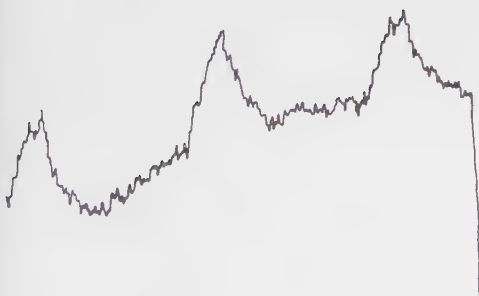
ADN Rate normal



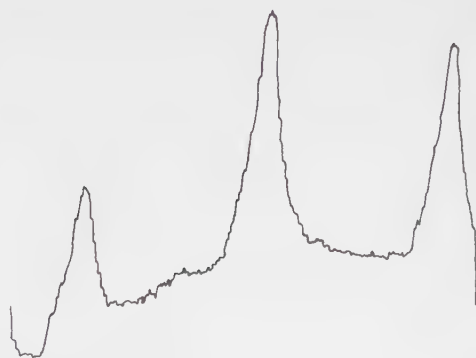
ADN de Leucémie L1210

courbe 1

courbe 3



ADN de ST₄



ARN de Leucémie L1210

courbe 2

courbe 4

Figure 19.

QUATRIEME PARTIE

ESSAIS DE MISE EN EVIDENCE DE L'AGENT VIRAL
CONTENU DANS LE SARCOME ST₄.

PLAN DE LA QUATRIEME PARTIE

oOo

I - Rapports entre virus et cancers.

II - Résultats obtenus dans le présent travail.

I - RAPPORTS ENTRE VIRUS ET CANCERS.

La théorie virale du cancer, énoncée dès 1903 par BORREL (21), a été très controversée depuis plus d'un demi siècle. Ses supports l'ont souvent défendue avec véhémence ou enthousiasme, tandis que les plus aseptiques préfèrent attendre et voir le succès final de l'isolement d'un agent viral des cancers ou des leucoses humaines. Bien que ce succès soit loin d'être atteint à l'heure actuelle, il y a un net regain en faveur de la théorie virale.

A - Historique.

En 1908, ELLERMAN et BANG (51) réussirent pour la première fois à transmettre la leucémie des oiseaux par des préparations acellulaires et inaugurèrent ainsi la relation entre le virus et le cancer. Malheureusement, cette expérience fondamentale ne parvint pas à convaincre les chercheurs de cette époque étant donné que la nature cancéreuse de cette maladie n'était pas établie nettement. Il a fallu attendre jusqu'en 1911 où PEYTON ROUS découvrit que le sarcome qui apparaît spontanément chez la poule PLYMOUTH ROCK pouvait être transmis de poule à poule au moyen de filtrat acellulaire. Cette fois-ci, il a été démontré d'une manière évidente qu'il s'agit d'un virus. Le virus de ROUS a toujours servi comme argument pour les partisans de la théorie virale du cancer jusqu'en 1932 où SHOPE (105) montra que le fibrome de lapin était causé par un virus. Puis en 1933, SHOPE (106) découvrit chez une espèce de lapin sauvage le fameux papillome à virus qui porte son nom.

Ce virus cause une tumeur bénigne ou papillome chez le lapin sauvage mais ne se transforme que rarement en tumeur maligne avec métastase. En 1936, BITTNER découvrit un agent dans le lait de Souris qui semble responsable du développement du cancer mammaire chez la Souris quelques mois après l'inoculation. Cependant, les facteurs génétiques et hormonaux jouent un rôle excessivement important si bien qu'il existe nombreux cas de cancers mammaires où le virus n'est pas détectable et d'autres où le virus inoculé n'engendre pas de cancers apparents.

En 1951, GROSS (63) rapporta que l'inoculation à des Souris nouveaux-nés issus de lignée sans leucémie spontanée avec des filtrats acellulaires préparés à partir d'organes leucémiques de Souris appartenant à une lignée à grande incidence de leucémies induisent des leucémies chez ces Souris inoculées en deux ou trois ans.

Puis STEWART, EDDY et LAW et nombreux autres chercheurs en étudiant d'une manière approfondie des leucémies de la Souris, montrèrent que plusieurs virus sont en jeu et que les facteurs génétiques et hormonaux jouent un rôle plus important qu'on ne l'avait soupçonné jusqu'alors. Récemment, FRIEND (54) découvre un agent filtrable capable d'induire la leucémie chez les Souris de n'importe quel âge dès deux à trois semaines après l'inoculation. Déjà, FRIEND a-t-elle démontré que le vaccin formolé préparé à partir du virus confère une protection substantielle contre cette leucémie.

Cette revue des cas démontrés par une preuve expérimentale solide des relations causales directes entre les virus et les cancers animaux montre que le virus peut engendrer le cancer. Et si l'on pense que les phénomènes biologiques fondamentaux ne diffèrent pas d'une manière inexplicable d'une espèce animale à une autre, on peut concevoir aisément que les virus peuvent causer le cancer chez l'homme aussi bien que chez les autres vertébrés. Si le cancer est un problème de croissance cellulaire, il n'y a aucune raison de croire que la croissance de la plupart des cellules humaines soit fondamentalement différente de celle des cellules d'autres animaux. Des progrès récents concernant la culture des cellules humaines in vitro s'ajoutent à la technique de microscopie électronique et surtout la connaissance de plus en plus approfondie sur la physiologie du virus nous ouvrent des horizons nouveaux sur le virus, cause des cancers.

Au cours de cet exposé, nous ne ferons par la monographie de chaque virus de cancer animal connu mais nous essayerons de dégager quelques notions générales de physiologie des virus, de la constitution chimique des virus, de même que leurs aspects immunologiques.

Ces notions nous apportent en même temps autant d'arguments en faveur de la théorie virale des cancers tout en nous apportant des moyens d'approche certains à ce problème le plus difficile de la biologie moderne.

B - Caractères généraux des virus :

Avant d'aborder les arguments actuellement connus sur l'étiologie virale des cancers et des leucémies, il est indispensable de rappeler quelques caractères fondamentaux qui sont particuliers à ces organites spécifiquement cellulaires que sont les virus.

1 - Corps d'inclusions :

L'observation des corps d'inclusions cytoplasmiques ou nucléaires est d'un grand intérêt pour mettre en évidence l'action d'un virus, comme l'ont fait COWDRY et KITCHEN pour la fièvre jaune. Dans le cas de la rage, les corps de Négri sont si distinctifs que leur existence est la manifestation évidente de l'action virale. Ce sont des effets d'interaction entre les virus infectant et la cellule infectée. Nombreux de ces corps d'inclusions contiennent des par-

ticules virales. Malheureusement, la plupart des virus ne produisent pas de telles inclusions. ROGER, JULLIEN, RUDALI et STERN (97) ont étudié des corpuscules contenant des acides nucléiques dans les tissus leucosiques de Souris AKR.

Au cours d'examens d'empreints de tissus leucémiques et non leucémiques, ces auteurs ont observé des grains intracellulaires et extracellulaires réagissant avec les colorants des acides nucléiques.

Depuis 1951, GROSS (63) et d'autres auteurs ont montré que les tissus leucémiques AK et AKR ou C58, de même que les tissus d'embryons AK contiennent un facteur cancérigène et leucémigène traversant les filtres bactériologiques. Au cours d'études au microscope électronique, DMOCHOWSKI et GREY (40) ont observé dans les tissus leucémiques des Souris, d'une part des particules d'aspect viral, mais également d'autres inclusions de 0,5 à 3 microns désignés par ces auteurs comme des corpuscules inconnus.

2 - Dimensions des virus :

Les dimensions des virus sont mesurées principalement par trois méthodes :

- a - Passage à travers des filtres de différentes porosité.
- b - Collection par ultracentrifugation à différentes vitesses.
- c - Microscopie électronique

Ainsi, en comparant les dimensions des virus, on voit dans le tableau établi par STANLEY (107) que la vaccine mesurant 225 millimicron compte parmi les plus gros virus, que le virus de la grippe est de 100 millimicron plus grand que le virus du papillome de SHOPE mesurant 40 millimicron, alors que le virus de la poliomyélite de 12 millimicron compte parmi les plus petites. Et il n'est pas impossible que le virus des cancers humains soit de l'ordre de quelques millimicron seulement s'il est réduit à la molécule d'acide nucléique sans la protéine accolée.

3 - Formes :

Selon BEARD (10) (11), il y a des formes de type arrondies, soit sphériques, soit sphéroïdes, des types de formes bacillaires et ceux de formes semblables à celles des spermatozoïdes.

4 - Constitution chimique :

Les virus sont constitués de nucléoprotéines. Certains contiennent à la fois l'acide désoxyribonucléique et l'acide ribonucléique tandis que d'autres ne contiennent que l'acide ribonucléique. Des lipides, des phospholipides et même le cholestérol ont pu être mis en

évidence. La présence ou l'absence des enzymes dans les particules virales est beaucoup discutée. OBERLING en 1952 a écrit que les activités synthétisantes des virus dépendent des systèmes enzymatiques des cellules parasitées, et ce qui explique un de leur caractères à savoir leur incapacité de croître dans un milieu artificiel employé pour la culture des bactéries.

5 - Origine :

MULLER (1922), DURANGI (1937) comparèrent les virus aux gènes. OBERLING affirmait que les virus sont de nature plus complexe. Par exemple les bactériophages contiennent plusieurs gènes. D'après LURIA en 1950, dans chaque bactériophage il existe une centaine de gènes ou plus. LEDERBERG (85) en 1946, a suggéré une origine mutagène des virus. Selon NICOLLE, les virus sont des produits cellulaires qui envahissent les cellules, vivent en elles pendant des générations en tant que parasites, perdent leur indépendance et leur capacité de se multiplier en dehors de la cellule.

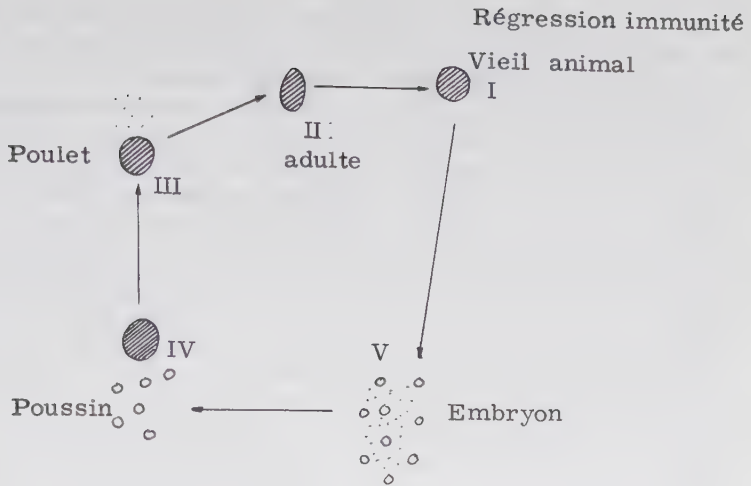
B - QUELQUES ASPECTS DE LA PHYSIOLOGIE DES VIRUS

1 - Latence des virus :

Un des aspects les plus importants de la physiologie des virus est la latence. Des exemples de latence de virus humains non cancérigènes sont cités par KOPROWSKI (77). Ainsi le virus de la poliomyélite, inoculé aux singes, a un temps de latence de 5 semaines, la psittacose inoculée aux Souris a un temps de latence qui va jusqu'à 10 ans... Quelques virus de cancers animaux existent dans les conditions de latence, mais on ne connaît pas encore de virus cancérigènes à l'état latent chez l'homme. FRIEDEWALS et KIDD en 1944 induisaient des papillomes chez des lapins domestiques en inoculant le virus de papillome de lapin sauvage, et sont parvenus à isoler le virus des papillomes de lapins domestiques si ceux ci ont été traités avant l'inoculation par un cancérigène. Selon SELBIES en 1946, l'obtention de virus de papillome de SHOPE a été obtenu avec l'aide d'un autre virus plutôt qu'au moyen d'un cancérigène. Ainsi un virus ou un cancérigène chimique sont capables de transformer un virus à l'état latent invisible en un virus isolable.

2 - Influence de l'âge de l'hôte :

DURAN-REYNALS (46) observa ensuite que l'âge de l'hôte joue un rôle important dans plusieurs affections virales. Les lésions causées par le virus de myxome sont plus destructives et moins prolifératives chez des sujets jeunes que chez des animaux âgés. Le plus bel exemple de l'influence de l'âge de l'hôte sur les lésions produites par un virus est dû à DURAN-REYNALS qui découvrit le cycle du virus de ROUS chez les poules.



a - En 1, un sarcome chez un vieil animal. La transmission n'est pas possible, et le virus est dit masqué.

b - Chez l'embryon, en V, les virus masqués provenant d'un sarcome d'un vieil animal deviennent non masqués. Ils ne produisent pas de tumeur, mais seulement de petites lésions hémorragiques ou non hémorragiques. On observe la présence de nombreux virus.

c - Chez le poussin, le virus produit quelques lésions hémorragiques, puis tumeur avec métastases nombreuses.

d - Chez le poulet le virus ne produit pas de lésions hémorragiques mais seulement une tumeur avec métastases mais ici le virus est variable et peut s'adapter à d'autres espèces.

e - Chez l'adulte, le virus produit seulement une tumeur avec métastases mais ici le virus est variable et peut s'adapter à d'autres espèces.

f - En revenant au stade 1, chez le vieil animal, comme nous l'avons vu précédemment, il y a production de tumeur mais sans métastases. La tumeur peut régresser. Une solide immunité peut se développer. En 1950, DURAN-REYNALS fit la remarque suivante "le virologiste peut imaginer que les virus du cancer infectent les sujets jeunes chez lesquels ils confèrent des conditions non néoplasiques subcliniques. Plus tard, au cours de la vie, ces virus latents sous l'action excitante des cancérigènes peuvent changer d'état et induire différentes tumeurs. Et lorsque le virus devient un virus du cancer son pouvoir infectieux disparaît".

3 - Spécificité et adaptabilité :

On sait que les virus sont hautement spécifiques et si spécifiques que pour un virus donné ils engendrent la maladie seulement à une sorte de cellules chez une espèce animale donnée et cela sous certaines conditions sans lesquelles ils cessent d'être pathogènes. Ainsi l'inoculation dans une muqueuse du virus du papillome de SHOPE ne donne naissance à aucune tumeur, et dans ces conditions, le virus apparaît comme non infectieux. Même pour le sarcome de ROUS, le virus quand il est isolé pour la première fois ne donne le cancer que chez les poules de la même race à partir de laquelle elle a été isolée. Plus tard, le virus s'adapte à d'autres espèces de poules et à d'autres espèces de volailles telles que canards ou faisants. Dans quelques cas, il est nécessaire de faire plusieurs passages chez le nouvel hôte avec des cellules avant qu'il soit possible de faire des passages avec filtrats acellulaires. Pour pouvoir transmettre le virus d'un hôte donné à un hôte d'espèce très éloignée, il est indispensable d'adapter le virus chez une espèce intermédiaire. Normalement, on peut espérer qu'un virus longtemps adapté chez l'homme, puisse passer encore chez d'autres espèces animales. Le fait que certains virus animaux croissent dans des cellules issues d'autres animaux laisse entrevoir que la situation n'est pas entièrement désespérée et que les recherches en ce sens ont encore raison d'être. Néanmoins, il est sans aucun doute que la mise en évidence d'un agent viral dans un cancer humain n'est pas une chose aisée. Car si l'adaptation d'un virus humain à un animal ou à une culture de cellules est possible, elle n'est pas toujours réalisable facilement.

4 - Taux de virus et transmissibilité :

On a reconnu que la variation de transmissibilité d'un virus, tel que celui du sarcome de ROUS est due aux taux de virus présent pendant l'inoculation. Tout récemment, CARR et DURAN-REYNALS ont prouvé expérimentalement que le taux de virus présent dans le tissu tumoral dépend étroitement de l'âge de l'hôte et de celui de la tumeur. BRYAN et collaborateurs ont étudié les relations entre le taux du virus de ROUS inoculé et le taux de virus extractible d'une tumeur à temps différents. Il apparaît à cette étude que le virus extractible approche du maximum si l'on utilise une forte concentration d'inoculation mais lorsqu'on utilise une dose de virus plus basse, le taux de virus est proportionnel aux doses. Ils ont montré aussi que de très petites doses de virus inoculé engendrent des tumeurs ou le virus n'est pas extractible. BEARD a montré que les différences d'infectivité des virus de papillomes de SHOPE de lapin sauvage et de lapin domestique, généralement considérés comme dues à la latence du virus du lapin domestique, sont dues non à la différence dans la nature du virus mais aux grandes différences du taux de virus présent dans ces papillomes. La proportion de virus produit dans les cellules peut varier d'une manière considérable si bien que dans nombreux cas des centaines de milliers de particules sont synthétisées par une

même cellule alors que dans certains cas la proportion de virus produits est à peu près égale à la proportion de cellules en mitose. Dans le tissu infecté ou la tumeur produit un taux considérable de virus et représente une très haute infectivité, alors que dans le dernier cas ils sont considérés comme non infectieux à défaut de virus suffisant. Les changements de nutrition, ainsi que ceux de la température durant la période de croissance de virus, peuvent être la cause des changements du taux de virus présents dans un hôte. Par conséquent, avant de conclure qu'une tumeur donnée est d'origine virale ou non, on devrait s'assurer d'une part que l'extrait est étudié sur des cellules qui sont réceptives au virus et que d'autre part, il y a une quantité suffisante de virus pour que l'infectivité puisse être mise en évidence. Ainsi, le taux de virus présent dans les tumeurs au moment de l'extraction constitue une des difficultés que nous devons surmonter en faisant par exemple une concentration préalable du matériel néoplasique utilisé pour l'extraction.

5 - L'agent viral en culture cellulaire :

La culture de cellules humaines in vitro ouvre des possibilités de recherches étonnantes. Les travaux de EARLE sur les cultures de tissus et ceux de GEY sur les cellules HETA encouragent beaucoup l'essai de culture de cellules humaines. STANLEY a mis en culture une dizaine de sorte de cellules humaines normales ou cancéreuses de différentes provenances. La plupart de ces cellules en culture sont utilisées pour l'étude de l'effet de différents virus connus. Tel matériel peut être aussi utilisé pour l'étude de la présence d'un éventuel virus connu ou inconnu ou bien constituer un test idéal pour détecter un virus humain suspect dans les tumeurs malignes. Les cellules amniotiques humaines mises en culture pour la première fois par ZITTER, FOGH et DUMELBACKE sont d'une grande utilité pour ce genre d'étude et aussi pour étudier la transformation des cellules normales en cellules cancéreuses potentielles.

STEWART et EDDY (108) rapportèrent en 1957 une méthode de culture de tissus pour augmenter la capacité de production de tumeurs des extraits leucémiques ou des tumeurs des glandes parotides. Cette méthode consiste à incuber des extraits ou cellules tumorales dans des cultures de rein de singe et d'embryon de Souris. Le pouvoir de production des tumeurs est augmenté et se manifeste par la production de tumeurs variées et la diminution de la période de latence chez les hamsters, rats, ou Souris, auxquels ces liquides de culture ont été injectés. C'est ainsi qu'ils vont mettre en évidence le virus du polyome S. E.

D - DONNEES RECENTES SUR QUELQUES VIRUS CONNUS DE TUMEURS ANIMALES.

1 - Virus du sarcome de ROUS :

Après avoir étudié les aspects physiologiques qui marquent la propagation des virus cancérigènes, nous examinerons maintenant quelques données récentes sur le virus du sarcome de ROUS dont l'étude approfondie des structures, de la constitution chimique et de ses propriétés immunologiques pourraient constituer des approches aux virus des cancers humains.

a - Etude de la structure au microscope électronique

L'agent viral du sarcome de ROUS était montré par GAYLORD (57) pour la première fois dans une coupe histologique au microscope électronique. Deux tumeurs sur trois examinées contiennent ces particules qui sont cependant plus nombreuses dans les tumeurs jeunes. La coloration osmique montre des particules denses avec une membrane mince enveloppante. Ces observations des particules virales ont été confirmées par BERNHARD, OBERLING et VIGIER (15) qui examinèrent un grand nombre de tumeurs. Les particules caractéristiques présentent en quantité variable dans 63 % de coupes examinées à un diamètre minimum de 70 à 80 millimicrons. Elles sont entourées d'une membrane externe, comme celle décrite par GAYLORD mais la partie centrale dense et colorable par l'osmium de 30 à 40 millicrons est séparée de la membrane externe par un deuxième membrane.



OBERLING, BERNHARD et VIGIER conclurent par analogie avec le facteur de BITTNER du cancer mammaire de la Souris, que la membrane externe est formée par une petite proportion de la membrane de la cellule, d'où le virus est libéré après sa formation. L'agent de ROUS pourrait comporter un antigène périphérique constitué d'une partie de la cellule hôte. La structure logique d'un virus serait que celui-ci ait des antigènes qui lui soient propres à la périphérie un antigène issu de la cellule hôte où il s'est multiplié.

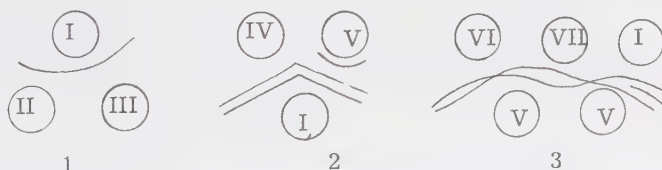
b - Etude chimique :

L'étude des propriétés du virus de ROUS concentré est faite largement par BEARD et celui-ci a montré que la concentration du virus purifié par rapport au virus non purifié est de l'ordre de 1 %.

Les problèmes de purification du virus de ROUS ont été étudiés par BRYAN et MALONEY. Il est indispensable d'augmenter la concentration de virus dans le tissu. EPSTEIN, en étudiant une tumeur ascite de ROUS, calcula qu'une tumeur dite "faible" montre que seulement 1 cellule sur 3.000 cellules contient 1 particule, alors que dans les tumeurs dites "fortes" on a un taux de 1 particule sur 57 cellules examinées. La purification se fait par la méthode du phénol de SCHRAM et ZILLIG, après concentration au méthanol selon la technique de SCHWARTZ. Les pertes durant la purification sont liées à la labilité du virus. Cette labilité serait une des causes qui font échouer les essais d'isolement de virus du cancer. Le phénol utilisé pourrait dénaturer l'acide ribonucléique du virus des cancers et le rendre non infectieux. Aussi, dans notre laboratoire, nous étudions une nouvelle méthode moins dénaturante dans les conditions opératoires habituelles. Enfin l'étude de la dégradation des impuretés non virales n'est pas dénuée d'intérêt. CARR et HARRIS utilisent la hyaluronisade pour traiter en premier lieu les extraits des tumeurs, puis ils utilisent la trypsine pour dégrader les impuretés constituant les protéines non virales.

c - Etude immuno-chimique :

HARRIS et SIMONS étudient les facteurs antigéniques des préparations du virus de ROUS par la méthode d'OUCHTERLONY par diffusion dans l'agar-agar. Ils ont obtenu les résultats suivants :



- I - Agent de ROUS extrait par le désoxycholate de sodium
- II - Sérum de cheval anti-Forsman
- III - Sérum hyperimmun de poule
- IV - Sérum de lapin anti-cytoplasme de sarcome de ROUS
- V - Agent de ROUS extrait à l'éther
- VI - Lipoprotéines provenant de l'extraction au désoxycholate de sodium.

Le sérum hyperimmun de poule résistant au virus par injection intraveineuse avec l'agent infectieux de ROUS est utilisé pour l'étude immuno-chimique, en même temps que l'antisérum de lapin anti-sarcome de ROUS, anti-sérum de cheval anti-hématies de mouton (sérum anti-Forsmann) et sérum anti-poule. Les antigènes sont préparés en traitant les préparations d'agent de ROUS avec les solutions de désoxycholate de sodium ou avec l'éther à la température du laboratoire (1).

1 - Les antigènes traités par le désoxycholate de Na donnent trois bandes avec les sérums de lapins anti-cytoplasme de sarcome de ROUS. Deux de ces bandes sont fortes et sont identiques à celles données par l'agent traité à l'éther et avec le sérum anti-poule (fig. 2 et 3).

2 - L'agent traité par le désoxycholate de sodium donne une bande avec le sérum hyperimmun de poule, et qui est identique au résultat obtenu avec le sérum de cheval anti-Forsmann (fig. 1).

3 - L'agent extrait à l'éther est Forsmann négatif.

4 - Des essais de recombinaison de l'agent traité à l'éther et l'extrait étheré pour reconstituer l'antigène de Forsmann, donnent des résultats négatifs.

5 - Les granules de lipoprotéines résultant de la désagrégation due au désoxycholate de Na ne contiennent ni les antigènes de virus ni ceux de Forsmann, mais apparaissent comme contenant deux antigènes de l'hôte identiques à ceux obtenus à partir de l'agent extrait de l'éther.

6 - Seulement, l'agent traité au désoxycholate réagit avec le sérum anti-Forsmann et donne une troisième bande avec le sérum de lapin anti-cytoplasme de Sarcome de ROUS. Les deux autres antigènes sont communs aux Lipoprotéines et à l'agent extrait à l'éther.

D'après ces résultats HARRIS et SIMMONS conclurent que l'antigène de l'agent viral est une lipoprotéine et probablement en relation avec l'antigène de FORSMANN, et que l'agent contient aussi un ou même deux antigènes communs aux antigènes de l'hôte.

Ces conclusions concordent avec les résultats obtenus par électrophorèse. La partie lipoprotéine est révélée par coloration à l'azocarmin et au noir Soudan et ne migre pas à pH = 8,0. Le matériel soluble donne trois bandes. La première migre vers l'anode ; n'est pas de nature protéique mais est constituée d'acide ribonucléique. La bande la plus rapide migre à la cathode, est de nature lipidique et contient le cholestérol. Une troisième bande chargée positivement, de vitesse de migration moyenne, est constituée seulement de protéine.

Cette étude complète immuno-chimique que nous donnons comme exemple montre que l'isolement d'un agent viral des cancers peut être aidé non seulement par la transplantation des animaux, mais encore par l'immunochimie ou la biochimie. Ces moyens d'investigation ajoutés au fractionnement des constituants de virus par chromatographie, constituent certainement à l'heure actuelle un appoint précieux aux essais biologiques.

2 - Virus et Cancers mammaires :

Les cancers mammaires de la Souris sont attribués à l'action d'un virus, ou facteur de BITTNER (18), dont les influences de l'hérédité et des hormones constituent des facteurs favorisants. Cependant, il n'est pas aisé d'apporter une preuve expérimentale chez la Femme.

La première étape de la recherche chez la Souris est l'essai de croisement de deux lignées de Souris, l'une ayant une haute et l'autre une basse incidence de cancers mammaires. Chez l'homme, il est évident qu'il n'est pas possible de réaliser une telle expérience.

La deuxième étape de recherches constitue l'allaitement des souriceaux. Les souriceaux d'une lignée de grande incidence de cancer mammaire sont élevés avec du lait de Souris à petite incidence de cancer mammaire. L'incidence du cancer mammaire est dans ce cas fortement abaissée.

Inversement, quand des souriceaux, nés de mère appartenant à une lignée à petite incidence de cancer mammaire, sont élevés par des mères de lignée à grande incidence de cancer mammaire, ils acquièrent les caractéristiques d'une lignée à grande incidence de cancer mammaire. On conclut qu'il existe dans le lait de lignée à haute incidence un facteur qui cause ou excite le développement du cancer du sein. Cette expérience n'est pas aussi pratiquable chez la Femme.

La troisième étape de recherches était de montrer que le "facteur lait" ou "l'incitateur de tumeur mammaire" a les propriétés d'un virus.

La quatrième étape de recherches chez la Souris consiste à chercher à mettre en évidence dans le lait de Souris de lignée à grande incidence de cancer mammaire des particules visibles au microscope électronique et identifiables aux virus.

PASSEY, d'une part, et GROSS, d'autre part, ont étudié au microscope électronique le lait humain, mais sans grands résultats. Chez la Souris, comme chez la Femme, tous les cancers du sein ne sont pas du même genre. Et chez la Souris seule on a pu mettre en évidence un agent viral. DMOCHOWSKI et ORR (41), à l'aide de l'excitation avec le méthylcholanthrène, arrivent à identifier le "facteur lait". BITTNER, étudiant la survie de l'agent de la tumeur

mammaire dans le tissu congelé à basse température, a pu montrer que cet agent, conservé à -80°C reste viable pendant 4 ans et demi. D'autre part, il a pu montrer qu'il n'y a aucun indice que le facteur lait soit "activé" par la congélation comme le suggéraient GYE et MANN.

En résumé, ANDERVONT, BITTNER, DMOCHOWSKY et autres chercheurs ont pu établir que l'agent de la tumeur mammaire de la Souris possède toutes les propriétés d'un agent infectieux viral qui se maintient après filtration, lyophilisation et dessiccation.

3 - Virus et leucémies de la Souris :

On note un renouveau d'intérêt pour la théorie virale des leucoses depuis les observations de GROSS (63) en 1951, confirmées en 1956 par WOOLEY et SMALL (121), que les filtrats acellulaires de tumeurs de Souris AK leucémiques pouvaient induire la leucémie chez les nouveaux-nés d'une lignée de Souris à petite incidence de leucémies.

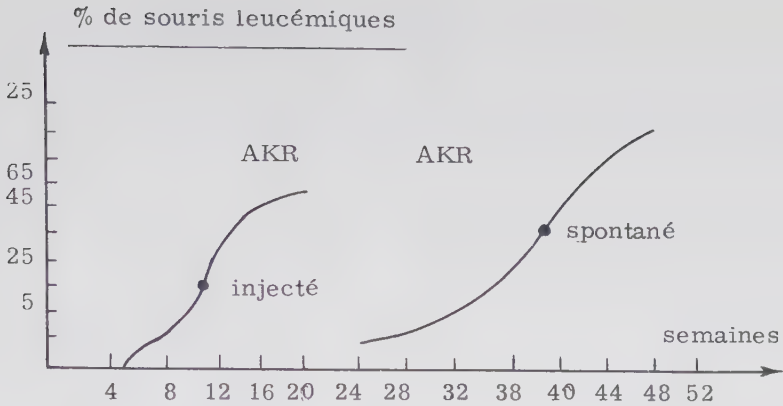
Puis GRAFFI produit des leucémies aux souriceaux nouveaux-nés en utilisant les extraits de tumeurs malignes de la Souris. LATARJET (84) accélérât le développement de leucémie chez les Souris AK en inoculant aux nouveaux-nés des extraits de tissus leucémiques. KALISS démontre la transmissibilité de la néoplasie de la Souris avec du tissu tumoral lyophilisé, tandis que MAGRASSI et MAS Y MAGRO sont capables de produire une maladie généralisée aux cobayes avec des extraits de tissus de sujets humains leucémiques. Puis en 1957, BERGOL'TS (13) rapporta l'induction de leucémie aux souriceaux nouveaux-nés ou aux Souris adultes avec des extraits de tissus de malades morts de leucémie. Enfin, vient l'induction de leucémie obtenue par Charlotte FRIEND chez la Souris Swiss adulte par des extraits acellulaires.

a - Agglutinabilité et précipitabilité :

KIDD a montré que le sérum de Cobaye normal contient un facteur qui in vivo protège les Souris C_3H contre le lymphosarcome de GARDNER 6 C_3HED . SCHWARTZ et SCHOOLMAN ont observé que le sérum de Cobaye normal présente de fortes réactions de précipitines et d'agglutinines contre les tissus de Souris AKR. Il semble que la leucémie n'est pas simplement due à la multiplication anarchique d'une cellule ou d'un groupe de cellules, mais plutôt la réponse de l'hôte contre un agent d'agression, et que dans le sang du sujet normal, il y a un facteur d'environnement qui protège le sujet d'une manière naturelle contre cette agression.

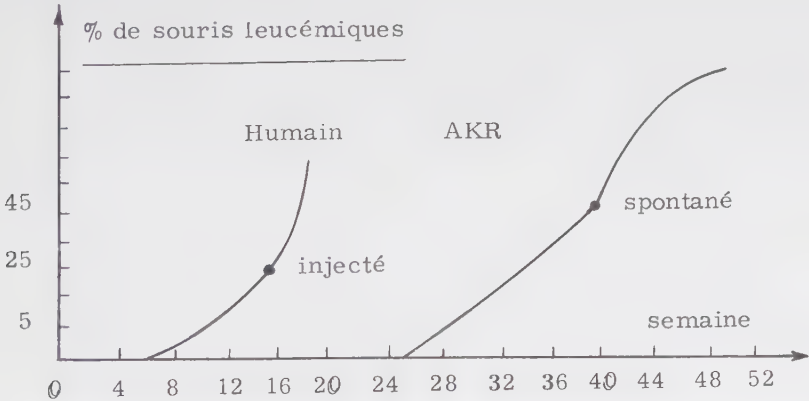
b - Accélération du développement des leucémies :

Chez les Souris AKR après l'inoculation avec des filtrats acellulaires de cerveaux de Souris AKR leucémiques, il suit un développement de lymphoblastome.



Chez les Souris de la lignée AKR, la leucémie spontanée apparaît environ 75 à 80 % des cas au bout d'un an. Les premiers cas sont observés au bout de 24 semaines. Si tels animaux sont inoculés avec des filtrats préparés à partir de cerveaux de Souris AKR leucémiques, au bout d'environ 22 semaines, SCHWARTZ et SCHOOLMAN ont déjà observé 50% de leucémies.

L'accélération de la leucémie chez des Souris AKR a aussi été obtenue au moyen de filtrats acellulaires de sujets humains morts de leucémie.



Ces expériences de SWHWARTZ montrent que la leucémie spontanée de la lignée de Souris étudiée est due à un virus, et que les manifestations morphologiques représentent la réaction primaire de l'hôte contre l'agression virale.

4 - Le virus du polyome :

L'agent leucémigène de GROSS, obtenu à partir de Souris leucémiques ou de Souris normales provenant d'une lignée à grande incidence de leucémies, est plutôt un fragment chromosomique de cellules leucémiques ou préleucémiques, et non pas un virus à pro-

prement parler. Cependant GROSS a obtenu des tumeurs parotidiennes et des sarcomes sous-cutanés. Il apparait que cet agent, le "virus du polyome" peut se séparer du facteur leucémique par ultracentrifugation différentielle ou par ultrafiltration. Le virus du polyome est reconnu comme plus résistant à la chaleur et au contact de l'éther que le facteur leucémigène. Cet agent oncogène, différent de l'agent leucémique, parasite non seulement les Souris de lignée AK, C₅₇Br ou C₃H dont les différences génétiques sont très importantes, mais encore d'autres espèces animales et peut être cultivé in vitro sur cellules rénales du Singe, sur cellules embryonnaires ou membrane chorio-allantoïdiennes. Il est cancérigène sur plusieurs espèces animales à la fois, Rat, Hamster, Lapin et est encore remarquable par la multiplicité et la diversité des tumeurs produites. Le virus du polyome, d'après les travaux récents, est un agent cancérigène capable de produire des anticorps immunisants, auto-reproductibles dans l'organisme, se propageant par contagion horizontale, contenant à la fois l'acide ribonucléique et l'acide désoxyribonucléique. Il est surprenant de constater que dans le facteur de GROSS existe deux principes opposés par leurs propriétés biologiques, l'un leucémique, l'autre oncogène. L'un présente tous les caractères d'un virus cytogénétique constitué de simples fragments chromosomiques ; l'autre oncogène, comporte les propriétés d'un virus parasite. Peut-on imaginer que le principe leucémigène et le principe oncogène contenu dans le facteur de GROSS ne fait qu'un seul principe, à l'image d'un bactériophage : virus qui, selon la cellule-hôte et son stade évolutif, peut avoir les caractères d'un virus cytogénétique ou ceux d'un virus parasitaire. Les travaux, dans un proche avenir, vont nous éclairer certainement sur le virus du polyome qui constitue une transition certaine entre la virologie et la cancérologie.

E - POSTULAT D'OBERLING SUR L'ACTION CANCERIGENE DU VIRUS :

OBERLING qui était un des défenseurs les plus acharnés de la théorie virale, s'est exprimé en ces termes "Ou bien nous devrions accepter qu'il y a plusieurs sortes de croissances malignes, et alors il nous est libre de croire à plusieurs causes possibles, ou bien il n'est qu'un seul processus cancéreux, et dans ce cas l'hypothèse virale devient la seule solution logique". OBERLING qui était un virologiste, accepte la dernière alternative, c'est-à-dire qu'il y a un seul processus cancéreux, et non plusieurs sortes de proliférations malignes. Il identifie le processus malin avec l'action cancérigène du virus. OBERLING dont les trois postulats suivants, selon lesquels le virus peut être la cause des cancers et des leucémies :

1 - Le virus doit être cancérigène.

2 - Le virus doit être responsable de la génèse de chaque tumeur maligne.

3 - L'intervention du virus doit expliquer d'une manière concordante l'activité de tous les autres facteurs cancérigènes connus.

En ce qui concerne le premier postulat d'OBERLING, on l'accepte actuellement sans difficulté, car une foule de virus sont reconnus comme capables d'engendrer le cancer chez les animaux.

Le deuxième postulat, selon les mots d'OBERLING, exige la "constante présence" du virus cancérigène dans chaque néoplasme. Mais dans ce cas, le virus doit être la cause première des cancers provoqués par les substances cancérigènes. Comme les actions des hydrocarbures cancérigènes sont presque uniformes, on doit admettre que tous les animaux sensibles à ces agents contiennent des virus capables de provoquer tous les types de cancers dont ces substances cancérigènes sont capables. Il n'est cependant pas illogique de penser que les virus peuvent exister en grande variété chez des êtres humains. En effet, tous les êtres humains n'hébergent-ils pas sans exception des colibacilles et d'autres microbes dans le tractus intestinal ? Ce qui est possible pour les microbes doit l'être pour les virus, d'autant plus que ceux-ci sont des parasites strictement intra-cellulaires et échapperaient aux réactions de l'organisme pour les éliminer.

Le troisième et dernier postulat d'OBERLING est que la cause du cancer doit être compatible avec l'action cancérigène des autres facteurs et expliquer même leur activité. Ces facteurs sont physiques, chimiques, parasitaires ou héréditaires. Mais comme partisan de la théorie virale, DURAN-REYNALS (46) a déclaré lui-même que pour le virologiste les cancérigènes autres que les virus agissent par l'intermédiaire du virus qui existe à l'état latent.

Les non-virologistes acceptent la production de certains cancers par les virus et ne croient pas que les virus puissent être aidés par les cancérigènes chimiques ou physiques. Ils sont impressionnés par la facilité avec laquelle les cancers naissent de l'action de cas cancérigènes en l'absence complète de virus connu.

F - THERAPEUTIQUE D'AVENIR DES CANCERS ET DES LEUCEMIES A LA LUMIERE DE L'ETIOLOGIE VIRALE :

Si la chimiothérapie ou la radiothérapie n'ont pas jusqu'ici réussi à guérir les maladies malignes, on peut penser que c'est parce qu'il n'y a encore aucune substance chimique capable de guérir une maladie d'origine virale, et que les rayons X ne tuent le virus qu'à une dose extrêmement élevée, de l'ordre de 4.000 à 6.000r, dose bien au-delà de la dose mortelle.

Si la théorie virale des cancers humains est vraie, on ne peut qu'attendre l'événement d'une vraie substance anti-virale, comme autrefois celui des sulfamides pour les maladies d'origine bactérienne.

Une voie de substances anti-virales semble possible : les antinucléiques (114). En effet, on sait que le virus est constitué d'une molécule de nucléoprotéine et que l'acide nucléique débarassé de sa protéine par purification, reste infectieux. Cette molécule d'acide ribonucléique est capable de pénétrer dans la cellule pour s'y multiplier aux dépens des enzymes et des protéines de la cellule-hôte. Si nous transformons cette molécule en anti-acide nucléique (115) par modification chimique, l'acide nucléique ainsi transformé en antagoniste pourrait aussi pénétrer dans la cellule-hôte et jouerait le rôle d'antagoniste direct contre la molécule d'acide nucléique infectieux du virus.

Une autre voie semble être l'interférence virale ou bactérienne la découverte de l'effet cytopathogène des virus A P C sur la cellule cancéreuse humaine, cellule Hela en culture, a suggéré à HUEBNER et autres chercheurs que ces virus pourraient avoir quelques effets sur les cellules cancéreuses chez l'Homme. On a trouvé que l'injection de ces virus dans la masse cancéreuse ou dans le courant sanguin donne lieu à la désintégration ou à la disparition de la masse tumorale. Malheureusement toutes les cellules cancéreuses ne sont pas détruites en même temps et les anticorps neutralisant les virus introduits ne tardent pas à se développer dans l'organisme.

SOUTHAM et MOORE ont pu montrer récemment que l'inoculation des sujets cancéreux avec certains virus neurotropes, cause quelquefois la régression du cancer. On connaît l'action inconstante de Trypanosoma Cruzi sur le processus cancéreux. Et l'avenir de la chimiothérapie pourrait être meilleur grâce aux travaux de la Biologie moléculaire, qui pousse l'étude de l'histo-pathologie jusqu'à celle de l'infrastructure. L'étude du mécanisme de la biogénèse des nucléoprotéines intracellulaires sous l'influence d'un équipement enzymatique complexe, peut ouvrir des horizons nouveaux dans les années à venir.

CONCLUSIONS :

Nous avons vu la longue évolution des recherches sur les rapports entre le virus et les cancers. Timide au début par insuffisance de preuves, peu à peu l'étiologie virale des cancers acquiert du terrain par l'augmentation grandissante du nombre de cancers animaux dont l'action causale du virus est certaine.

L'étude actuelle de la physiologie des virus, c'est-à-dire des phénomènes d'auto-reproduction qui permettent leur multiplication dans la cellule en rapport avec leur constitution macromoléculaire que l'étude chimique permet d'élucider progressivement, et

celle des modalités de leur interaction sur l'infrastructure de la cellule-hôte, conduisent à une meilleure connaissance de cet organe spécifiquement et strictement intracellulaire. Elles contribuent certainement à l'isolement final d'un virus spécifique des cancers humains, et la théorie virale reste vraie.

II - RESULTATS OBTENUS DANS LE PRESENT TRAVAIL

Essais de mise en évidence d'un agent viral dans le sarcome ST₄ induit par le Chloramphénicol chez des Souris Swiss adulte.

1 - Activité biologique du liquide acellulaire provenant de la centrifugation du broyat de la tumeur ST₄.

Dans une première étape de ces essais de mise en évidence d'un facteur macromoléculaire biologiquement actif, nous homogénéisons les tumeurs prélevés chez des Souris Swiss porteuses de Sarcome ST₄ au 12^{ème} jour de transplantation, dans du liquide de tyrode, en maintenant la température au voisinage de 0°C. par un mélange réfrigérant fait de carboglace et d'alcool méthylique. Nous centrifugeons à 30.000g pendant 1/2 heure. Le liquide surnageant est acellulaire. Nous nous assurons qu'il ne contient aucune cellule vivante par examen au microscope de plusieurs prélèvement de ce liquide. D'ailleurs, on sait que la leucémie L 1210 qui ne contient pas de facteur macromoléculaire actif ne peut-être transplantée avec succès que si l'on injecte aux Souris DBA/₂ recevant une quantité de cellules leucémiques non inférieure à 1000. Ce liquide ainsi obtenu est inoculé aux Souris Swiss adultes par voie péritonéale : Nous n'obtenons pas de tumeur mais une splénomégalie qui tue les Souris inoculées entre 15 et 20^{ème} jour (figure 20).

Nous dénommons ce facteur V T₄.

2 - Transmission du Sarcome ST₄ aux Souris Swiss âgées de 3 semaines par le filtrat obtenu à travers des bougies.

Comme nous avons remarqué que les souriceaux nouveaux-nés ne supportent pas le choc causé par une injection de liquide acellulaire ou de cellules tumorales provenant du Sarcome ST₄ nous avons utilisé des Souris jeunes, âgées de 3 semaines pour faire cette expérience.

Les tumeurs ST₄ récoltées sont broyées au mortier en présence de sable de Fontainebleau stérile, dans du liquide de Tyrode. Le liquide obtenu après ce broyage est filtré à travers une bougie Berkefeld, de porosité suffisante pour arrêter les bactéries. Nous avons utilisé une culture de colibacille pour vérifier l'efficacité de

nos filtres. Après filtration nous injectons 0,5 ml de liquide obtenu à 200 Souris Swiss jeunes âgées de 3 semaines, par voie péritonéale. Notons que 20 grammes de Tumeur nous a donné environ 16 cm³ de liquide acellulaire.

Nous suivons l'évolution de ces Souris ainsi traitées. On sait que les Souris Swiss contractent à partir de 1 an un pourcentage de leucémie spontanée inférieure à 1%. Nos Souris inoculées présentent à partir du 13e mois des tumeurs du type réticulo sarcome avec splénomégalie. Leur mortalité s'étale du 13e mois au 22e mois.

3 - Essais de mise en évidence au microscope électronique.

Devant ces résultats, nous envisageons la possibilité d'un agent viral ou pseudo-viral qui constitue le facteur biologiquement actif contenu dans le sarcome ST₄.

Grâce à l'obligeance de Mr. CABALA du laboratoire de Cristallographie physique de la Faculté des Sciences de Besançon, nous avons pu mettre en évidence quelques images au microscope électronique. Nous avons observé la présence dans le cytoplasme des particules virales dont l'aspect rappelle les images d'acide ribonucléique du Sarcome de ROUS. Le liquide acellulaire soumis à l'examen au microscope électronique montre des particules présentant une double membrane ayant 800 Angström environ de diamètre (figure 21).

Etude immuno-chimique :

Nous avons essayé de mettre en évidence des facteurs spécifiques du Sarcome ST₄ par la méthode d'Ouchterlony long par diffusion à l'agar-agar.

Les lapins sont immunisés par injection intramusculaire dans la patte postérieure 3 fois par semaine pendant 4 semaines à raison de 1 ml de suspension de cellules tumorales additionné de 0,5 ml d'adjuvant de Freund par injection. La suspension de cellules tumorales est faite dans le liquide de Tyrode (4ml par gramme de tumeur). On saigne les lapins 9 jours après la dernière injection. Nous avons observé que les Lapins ne supportent pas l'injection intraveineuse d'une telle suspension (alors qu'ils tolèrent parfaitement par voie intraveineuse une suspension de cellules leucémiques L 1210 ou de cellules leucémiques humaines). Nous avons montré qu'il existe dans les cellules tumorales du Sarcome ST₄ un facteur qui baisse la tension artérielle du Lapin (116).

Le sérum obtenu donne une bande de précipitation avec la rate normale de Souris Swiss (figure 22), mais trois bandes avec la rate de Souris Swiss ayant reçu une inoculation de liquide acellulaire de sarcome ST₄ (figure 23). Il nous paraît qu'il existe au moins deux antigènes propres au sarcome ST₄.

Nous rapprochons ces résultats à ceux obtenus par HARRIS et SIMONS (73) concernant le sarcome de ROUS.

VT₄C

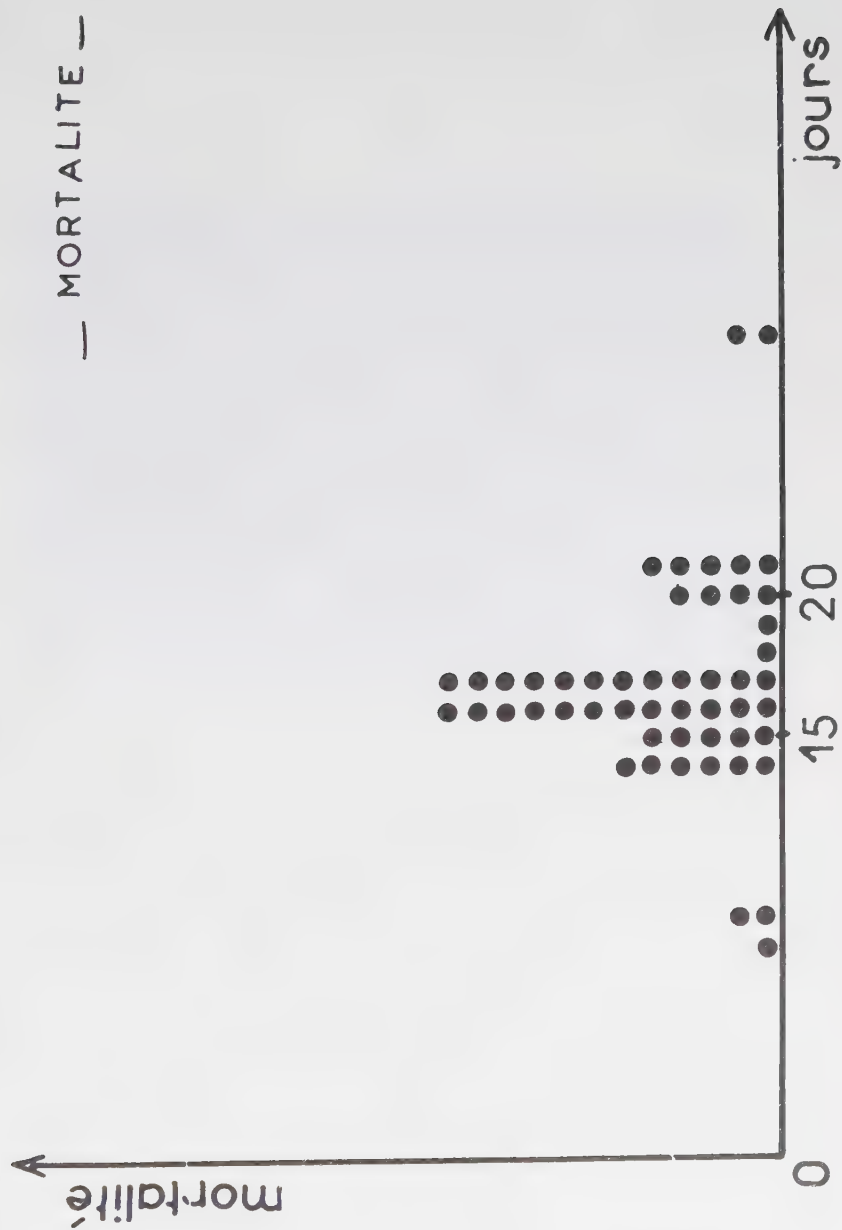


Figure 20.

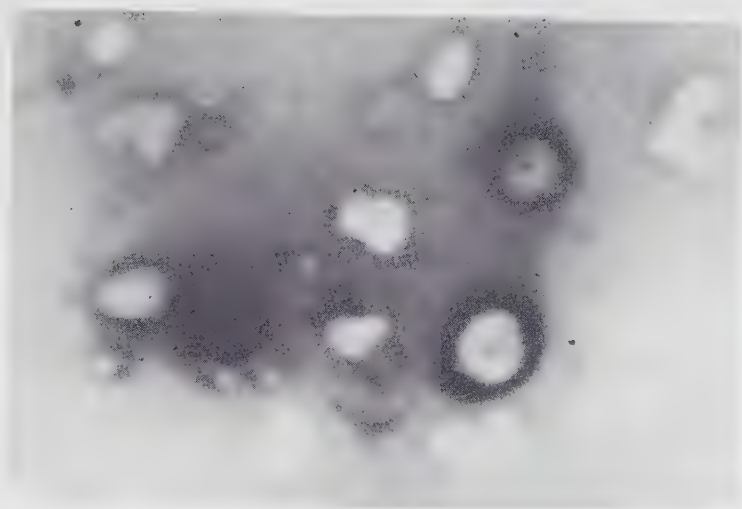
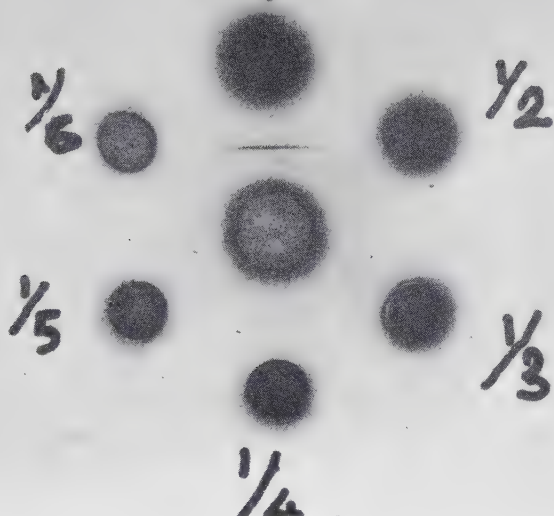


Figure 21. Particules virales contenues
dans le liquide acellulaire
provenant de sarcome ST₄
vues au microscope électronique.

antigène



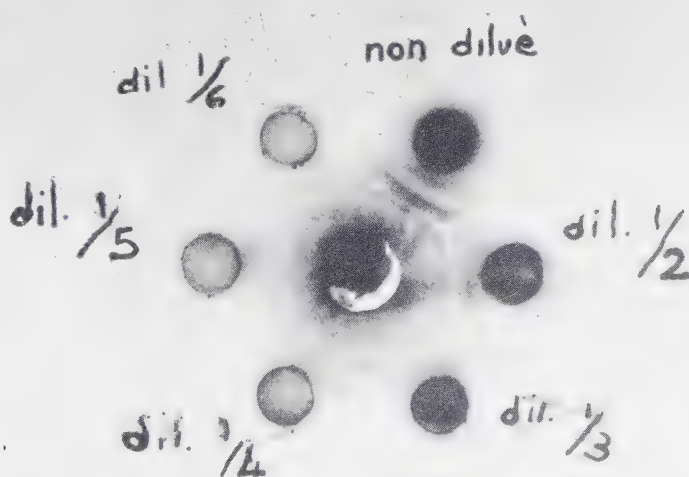
A

Figure 22.

Rate normale.

TUMEUR ST₄

antigène cellulaire broyé au mortier



B

Figure 23.

Rate de souris
porteuse de sar-
come ST₄.

CONCLUSIONS

D'après les résultats obtenus par ce travail, il semble qu'un grand chapitre soit ouvert concernant l'étude de la cancérogénèse par les médicaments en général et les antibiotiques en particulier. On connaît maintenant l'effet leucémigène et cancérigène des radiations ionisantes, et cela seulement depuis ces quelques dernières années grâce aux travaux expérimentaux, alors que pendant une trentaine d'années ces mêmes radiations ont été utilisées largement sous différentes formes sans qu'on se soucie des perturbations biologiques éventuelles. Si l'on raisonne de la même manière pour les médicaments, notamment les antibiotiques, on peut dire qu'ils sont aussi à l'heure actuelle très largement dispensés chez les sujets humains. Les résultats que nous avons obtenu pourraient soulever certaines réflexions. En effet, chez les Souris, le chloramphénicol dans certaines conditions biologiques définies, est capable de produire un processus cancérigène. Or, si ce même processus se produit chez l'homme avec un temps de latence plus longue, un tel processus même cancérigène pourrait passer inaperçu et incontrôlable car le nombre de médicaments et d'antibiotiques administrés à un même sujet est considérable, en maintes circonstances de sa vie.

—oooOooo—

RESUME

- 1 - Il a été obtenu un réticulo sarcome transplantable, que nous dénommons sarcome ST₄, par injections répétées de chloramphénicol aux Souris Swiss adultes.
- 2 - Nous avons monté au cours de ce travail un appareil destiné à abaisser d'une manière contrôlée la température aux environs de -80°C, grâce à un système de programmation électronique. Cet appareil permet de conserver efficacement le sarcome ST₄ à -80°C aux fins d'études biologiques.
- 3 - Le Sarcome ST₄ se cultive aisément in vitro.
- 4 - L'isolement de l'acide désoxyribonucléique et de l'acide ribonucléique à partir du Sarcome ST₄ a été effectué.
- 5 - Nous avons mis au point une nouvelle méthode de déprotéinisation de l'acide ribonucléique en utilisant le carvacrol au lieu du phénol.
- 6 - L'étude comparée des spectres aux rayons ultra-violetts des acides nucléiques isolés des cellules normales et cancéreuses montre une différence notable pour les acides désoxyribonucléiques. Dans les mêmes conditions, les acides ribonucléiques ne présentent pas de différences significatives.
- 7 - Il apparait qu'il y a une différence de spectres d'absorption des acides désoxyribonucléiques provenant d'invertébrés et de vertébrés. Il n'en est pas de même pour les acides ribonucléiques correspondants.
- 8 - Le liquide acellulaire obtenu par centrifugation des tumeurs homogénéisées du Sarcome ST₄ reste pathogène pour les Souris Swiss en leur causant une splénomégalie mortelle comme le sarcome ST₄ lui-même.

- 9 - Le liquide acellulaire obtenu par filtration à travers bougies du liquide provenant de l'homogénéisat de tumeurs ST₄ produit chez des Souris Swiss inoculées une splénomégalie entre le 13e mois et le 22e mois après l'inoculation aux Souris Swiss âgées de 3 semaines.
- 10 - L'étude au microscope électronique du liquide acellulaire obtenu à partir du Sarcome ST₄ montre des particules ayant une double membrane et mesurant environ 800 Angströms.
- 11 - L'étude immunochimique par la méthode d'Ouchterlong montre qu'il existe dans la rate de Souris Swiss ayant reçu le liquide acellulaire de Sarcome ST₄ trois antigènes, dont deux semblent propres au Sarcome ST₄ lui-même.

oOo

Vu le Président de Thèse :
Professeur J. BERNARD

Vu le Doyen de la Faculté :
Professeur G. CORDIER

Vu et Permis d'imprimer
Le Recteur de l'Académie de Paris
J. ROCHE

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - ALLEN (G.S.H., Jr.) and POWELSON (D.M.) 1958. -
Effect of chloramphénicol on glucose oxidation in *Escherichia coli* Science, 127, p. 1341-1342.
- 2 - ANAND (N.) and DAVIS (B.D.) 1960. -
Damage by streptomycin to the cell membrane of *Escherichia coli*.
Nature, 185, p.22-23.
- 3 - ANAND (N), DAVIS (B.D.) and ARMITAGE (A.K.) 1960. -
Uptake of streptomycin by *Escherichia coli*.
Nature, 185, p.23-24.
- 4 - ANDERVONT (H. B.) and DUNN (T. B.) 1953. -
Influence of Heredity and the Mammary Tumor Agent on the Occurrence of Mammary Tumors in Hybrid Mice.
(J. Nat. Cancer Inst. 14, 317).
- 5 - ANGUIANO (G.) et ANCIRA (G.) 1955. -
Numération simultanée totale et différentielle directe des leucocytes dans une chambre à numération.
(Acta. Haematog. 13, 124).
- 6 - ARONSON (A.I.) and SPIEGELMAN (S.) 1958. -
On the use of chloramphenicol-inhibited systems for investigating RNA and protein synthesis.
Biochim. et Biophys. Acta, 29, p. 214-215.

7 - ASTRACHAN (L.) and VOLKIN (E.) 1959. -

Effects of chloramphenicol on ribonucleic acid metabolism in T2-infected *Escherichia coli*.

Biochim. et Biophys. Acta, 32, p. 449-456.

8 - BARTZ (Q.R.) 1958. -

Isolation and characterization of Chloromycetin.

J. Biol. Chem. 172, p. 445-450.

9 - BEARD (J.W.), SHARP (D.G.) and ECKERT (E.A.) 1955. -

Tumors Viruses.

(Advances in Virus Research, 3, 149).

10 - BEARD (J.W.) 1957. -

Etiology of Avian Leukosis

(Ann. New York Acad. Sc. 68, 473).

11 - BEARD (J.W.) 1957. -

Isolation and identification of Tumor Virus.

(Texas Rep. Biol. Med. 15, 627-58).

12 - BERGERSON (F.J.) 1953. -

Cytological changes induced in *Bacterium coli* by chloramphenicol.

J. Gen. Microbiol. 9, 353-356.

13 - BERGOL'TS (V.M.) 1957. -

Cultivation of Human Leukemic Factor in chorio allantoic Membrane of Chicken Embryos.

(Problemes Hematol. & Blood Transfusion, 4, 29 and 32, 11).

14 - BERNARD (J.). -

Polyglobulies et leucémies provoquées par les injections intramédullaires de goudron.

(1 vol. Paris, 1936, Doin, éd.).

15 - BERNHARD (W.), OBERLING (C.) and VIGIER (P.) 1956. -

Ultrastructure de virus dans le sarcome de Rous, leur rapport avec le cytoplasme des cellules tumorales.

(Bull. du Cancer, 43, 407-22).

III

- 16 - BERNLOHR (R. W.) and NOVELLI (G. D.) 1960. -

Bacitracin biosynthesis and spore formation in *Bacillus licheniformis*.

Bacteriol. Proc. 149.

- 17 - BILLEN (D.) 1960. -

Effects of prior alteration in nucleic acid and protein metabolism on subsequent macromolecular synthesis by irradiated bacteria.

J. Bacteriol. 80, p. 86-95.

- 18 - BITTNER (J. J.) 1957. -

Bertner Foundation Lecture : Studies on Mammary Cancer in Mice and their Implications for the Human Problem.

(Tex. Rep. Biol. & Med. 15, 659).

- 19 - BONVENTRE (P. F.) and KEMPE (L. L.) 1960. -

Physiology of toxin production by *Clostridium botulinum* types A and B. IV. Activation of the toxin.

J. Bacteriol. 79, p. 24-32.

- 20 - BOREK (E.) and RYAN (A.) 1958. -

Studies on a mutant of *Escherichia coli* with unbalanced ribonucleic acid synthesis. II. The concomitance of ribonucleic acid synthesis with resumed protein synthesis.

J. Bacteriol. 75, p. 72-76.

- 21 - BORREL (A.) 1901. -

Les théories parasitaires du Cancer.

(Ann. Inst. Pasteur, 15, 49-67).

- 22 - BOZEMAN (F. M.) WISSEMAN (C. L., Jr.) HOPPS (H. E.) and DANAUKAS (J. X.) 1954. -

Action of chloramphenicol (CA) on T-I bacteriophage. I. Inhibition of intracellular multiplication.

J. Bacteriol. 67, p. 530-536.

- 23 - BROCK (T. D.) and BROCK (M. L.) 1959. -

Similarity in mode of action of chloramphenicol and erythromycin.

Biochim. et Biophys. Acta, 33, p. 274-275.

- 24 - BROCK (T. D.) and BROCK (M. L.) 1960. -

Recovery of *Escherichia coli* after antibiotic treatment.

Bacteriol. Proc. p. 178.

- 25 - BROWN (C. H.) 1950. -

Elimination of kappa particles from "killer" strains of *Paramecium aurelia* by treatment with Chloromycetin.
Nature, 166, p. 527.

- 26 - BRYAN (W. R.) 1957. -

Host Virus relationship in tumour inducing viruses.
(Texas Reports on Biology and Medicine, 15, 674-703.)

- 27 - BUFFET (R. F.) COMMERFORD (S. L.) FURTH (J.) et
HUNTER (M. S.) 1958. -

Agent in AK leukemic tissues not sedimented at 10 5000 g
causing neoplastic and non neoplastic lesions.
(Prec. Soc. Exper. Biol. Med. 99, 401.

- 28 - BUNGELER (W.) 1932. -

Die experimentelle Erzeugung von Leukämie, allen Kämischen
Myelosen, Lymphadenosen und Lymphosar Komen.
(Klin. Wochenschr., 1932, 1982).

- 29 - BURNET (M.) 1959. -

Dsiccussion du rapport de J. Furth, "Mechanism of carcinogenesis virus" p. 37, in Carcinogenesis.
(Ciba Foundation Symposium-1 vol. Londres, Churchill, édit.).

- 30 - BURTON (L.) FRIEDMAN (F.), KASSEL (M. L.) and
ROTTINO (A.) 1959. -

The Purification and Action of Tumor Factor extracted from
Mouse and Human Néoplastic Tissue.
(Tr. New York Acad. Sc. 21, 700).

- 31 - CONTROULIS (J) REBSTOCK (M. C.) and CROOKS (H. M., Jr.)
1949. -

Chloramphenicol (Chloro mycetin). V. Synthesis.
(J. Am. Chem. Soc. 71, 2463-68).

- 32 - COOK (J. W.), HIEGER (I) KENNAWAY (E. L.) et MAYNEORD
(W. V.). -

The production of cancer by pure hydro carbons.
(Proc. Roy. Soc. 1932, 111 B, 445).

- 33 - COX (A. J.), WILSON (R. H.) et DE EDS (F.). -

The carcinogenic activity of 2 - acetamido - fluorene, characteristics of the lesions in albino rats.

(Cancer Research, 1947, 7, 647).

- 34 - CRAWFORD (L. V.) 1959. -

Nucleic acid metabolism in *Escherichia coli* infected with phage T5.

Virology, 7, p. 359-374.

- 35 - DAGLEY (S) and SYKES (J) 1960. -

Bacterial ribonucleoprotein synthesized in the presence of chloramphenicol.

Biochem. J., 74, p. 11-12.

- 36 - DE CARVALHO (S.) 1954. -

Inoculation of Human Amnion Cells in Culture with Materials from Fractionated Cells of Human Acute Leukemic.

(Proc. sixth Congress of the Intern. Soc. Hematology, N. Y. Grune & Stratton, Inc. p. 80).

- 37 - DE CARVALHO (S.) 1959. -

Cytopathogenicity of RNA, Rich Particles from Human Leukemic and Tumor Cells for Human Amnion Cultures.

Proc. of the third Canadian Cancer confer. New York Academic Press, Inc. p. 329).

- 38 - DE CARVALHO (S.) 1960. -

Biologic properties of Human Leukemic and Tumoral RNA.

The Effect of Different Media on the Cytopathogenicity in Tissue culture.

(J. Lab. & Clin. Med. 55, 694).

- 39 - DJORDJEVIC (B) and SZYBALSKI (W) 1960. -

Genetics of human cell lines. III. Incorporation of 5-bromo- and 5-iododeoxyuridine into the DNA of human cells and its effect on radiation sensitivity.

J. Exptl. Med. 112, p. 509-531.

- 40 - DMOCHOWSKI (L.) et GREY (C. E.) 1957. -

Electron Microscopy of Tumors of known and suspected viral etiology.

(Tex. Rep. Biol. Med. 15, 704-756.)

- 41 - DMOCHOWSKI (L.) and ORR (J.W.) 1949. -

Induction of breast Cancer by Oestrogens and methylcholanthrene in high and low breast Cancer Strain Mice.
(Brit. J. Cancer 3, 376-384).

- 42 - DMOCHOWSKI (L.) SYKES (T.A.) GREY (E.) SCHULENBERGER (C.C.) and HOWE (C.D.) 1959. -

Studies on Human Leukemia.
(Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 3, 17).

- 43 - DOUDNEY (C.O.) 1960. -

Inhibition of nucleic acid synthesis by chloramphenicol in synchronized cultures of *Eschericia coli*.
J. Bacteriol. 76, p. 122-124

- 44 - DRACULIC (M.) and ERRERA (M) 1959. -

Chloramphenicol-sensitive DNA synthesis in normal and irradiated bacteria.
Biochim. et Biophys. Acta, 31, p. 459-463.

- 45 - DURAN-REYNALS (F) and THOMAS (R.M.) 1940. -

A Hemorrhagic Disease Occuring in Chicks Inoculated with the Rous and Fujinami Viruses.
(Yale J. Biol. & Med. 13, 77).

- 46 - DURAN-REYNALS (F.) 1953. -

Virus-Induced Tumors and the Virus Theory, in Pathophysiology of Cancer. (Hamburger (F.) and Fishman (W.H.) Editors, N.Y. Paul B. Hoeber, Inc. Medical Book Department of Harper & Brothers, p.298);

- 47 - EDDY (B.E.), STEWART (J.E.), KIRSCHTEIN (R.L.) et YOUNG (R.D.) 1959. -

Induction of Subcutaneous nodules in Rabbits with the S.E. Polyoma virus.
(Nature, 183, 766).

- 48 - EDDY (B.E.), STEWART (J.E.), STANTON (M.F.) et MARCOTTE (J.M.) 1959. -

Induction of tumors in Rats by tissue culture preparation of S.E. polyoma Virus.
(J. Nat. Cancer Inst. 22, 161).

- 49 - EDDY (B. E.), STEWART (S. E.) YONNG (R. D.) et MIDER (G. B.) 1958. -

Neoplasms in Hamsters induced by Mouse tumor agent passed in tissue Culture.

(J. Nat. Cancer Inst. 20, 747).

- 50 - EHRLICH (J.), BARTZ (Q. R.), SMITH (R. M.), JOSLYN (D. A.) and BURKHOLDER (P. R.) 1947. -

Chloromycetin, a new antibiotic from a soil actinomycete (Science, 106 417).

- 51 - ELLERMANN (V.) et BANG (O.) 1908. -

Experimentelle Leukämie bei Hühnern.

(Zentrall. Bakt. I Abt. 46, 495).

- 52 - EPSTEIN (M. A.) and COOK (H. P.) 1951. -

The Effects of microwaves on the Rous N°1 foal Sarcoma Virus.

(Brit. J. Cancer, 5, 244-251).

- 53 - FRAENKEL-CONRAT (H.) et WILLIAMS (R. C.) 1955. -

Reconstitution of active tobacco mosaic virus, from its inactive protein and nucleic acid components.

(Proc. Nat. Acad. Sc. U.S. 41, 690).

- 54 - FRIEND (C.) 1957. -

Cell-free Transmission in Adult Swiss of a Disease Having the Character of a Leukemia.

(J. Exper. Med. 105, 307-18).

- 55 - FURTH (J.) and METCALF (D.) 1958. -

An Appraisal of the Tumor Virus Problem.

(J. Chron. Dis. 8, 88).

- 56 - GALE (E. F.) and FOLKES (J. B.) 1953. -

The assimilation of amino-acids by bacteria. 15. Actions of antibiotics on nucleic acid and protein synthesis in Staphylococcus aureus.

Biochem. J. 53, p. 493-498.

- 57 - GAYLORD (W. H.) 1955. -

Virus-like Particles Associated with the Rous Sarcoma as seen in Sections of the Tumor.

(Cancer Research, 15, 80-83).

VIII

58 - GERMAN (A.) et TRAN BA LOC 1962. -

Induction d'une tumeur transplantable chez des Souris de lignée Swiss par injections répétées de chloramphénicol.
(Ann. Pharm. Franç. 20, p. 116-120).

59 - GIERER (A.) et SCHRAMM (G.) 1956. -

Infectivity of ribonucleic acid from tobacco mosaic virus
(Nature, 177, 702).

60 - GILLIES (N. E.) and ALPER (T.) 1959. -

Reduction in the lethal effects of radiations on Escherichia coli by treatment with chloramphenicol.
(Nature, 183, 237-238).

61 - GRAFFI (A.) 1957. -

Chloroleukemia of Mice.
(Ann. New York Acad. Sc. 68, 540).

62 - GROS (F.) and GROS (F.) 1958. -

Rôle des acides aminés dans la synthèse des acides nucléiques chez Escherichia coli.
Exptl. Cell Research, 14, p. 104-131.

63 - GROSS (L.) 1951. -

Spontaneous leukemia developping in C₃H Mice following inoculation in Infancy, with AK-leukemic extracts, or AK-embryos.
(Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 76, 27-32).

64 - GROSS (L.) 1953. -

A filterable agent recovered from AK Leukemic extracts causing salivary gland carcinomas in C₃H Mice.
(Proc. Soc. Expect. Biol. Med. 83, 414).

65 - GROSS (L.) 1955. -

Induction of parotid Carcinomas and for subcutaneous Sarcomas in C₃H organ extracts.
(Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 88, 362).

66 - GROSS (L.) 1956. -

Influence of ether in vitro on pathogenic properties of Mouse Leukemia extracts.
(Acta Hemat. 15, 273).

67 - HACK MANN (C.), -

Chemische Koustitution und Krebslokalisation.
(Verhandl. Deutsch. Ges. Path. 1947, 307).

68 - HAHN (F. E.) SCHAECHTER (M.) CEGLONSKI (W. S.) HOPPS (H. E.) and CIAK (J.) 1957. -

Inter relations between nucleic acid and protein bio synthèses
I. Synthèses and fate of bacterial nucleic acids during exposure to, and recoverg from the action of chloramphénicol.
(Biochim. et Biophys. Acta 26, 269-476).

69 - HAHN (F. E.) WISSEMAN (C. L. Jr.) and HOPPS (H. E.) 1954. -

Mode of action of chloramphenicol. II. Inhibition of bacterial D-polypeptide formation by an L-stereoisomer of chloramphenicol.

J. Bacteriol. 67, p. 674-679.

70 - HAHN (F. E.) WISSEMAN (C. L., Jr.) and HOPPS (H. E.) 1955. -

Mode of action of chloramphenicol. III. Action of chloramphenicol on bacterial energy metabolism.

(J. Bacteriol. 69, 215-223).

71 - HAHN (F. E.) HAYES (J. E.) WISSEMAN (C. L. Jr.) HOPPS (H. E.) and SMADEL (J. E.) 1956. -

Mode of action of chloramphenicol. VI. Relation between structure and activity in the chloramphenicol series.

(Antibiotics and Chemotherapy 6, 531-543).

72 - HAROLD (F. M.) and ZIPORIN (Z. Z.) 1958. -

The relationship between the synthesis of DNA and protein in Escherichia coli treated with sulfur mustard.

Biochim. et Biophys. Acta, 28, p. 492-503.

73 - HARRIS (R. J. C.). -

Some aspects of Virus-induced Tumors.

(Journal of chronic Diseases, 1958, 8, 58-87).

74 - HAYS (E. F.), SIMMONS (N. S.) and BECK (W. S.) 1957. -

Induction of Mouse Leukemia with Purified Nucleic Acid preparations.

(Nature, London, 180, 1419).

75 - HOROWITZ (J.) LOMBARD (A) and CHARGAFF (E) 1958. -

Aspects of the stability of a bacterial ribonucleic acid.

J. Biol. Chem. 233, p. 1517-1522.

76 - KIDD (J.G.) 1948. -

Virus and Virus-like Agents as causes of Cancer.
(Johns Hopkins Hosp. Bull. 82, 583-600).

77 - KOPROWSKI (H.) 1952. -

Latent or dormant viral Infections.
(Ann. New-York Acad. Sc. 54, 963-976).

78 - LACASSAGNE (A.). -

Les cancers produits par des substances chimiques exogènes
(1 vol. Paris, 1946, Hermann, éd.).

79 - LACASSAGNE (A.), BUU-HOI (N.P.) et RUDALI (G.). -

Inhibition of the carcinogenic action produced by a weakly
carcinogenic hydro carbon on a highly active carcinogenic
hydrocarbon.
(Brit. J. Exper. Path. 1945, 26, 5).

80 - LACASSAGNE (A.). et NYKA (W.). -

Faible réaction à l'injection intraveineuse du virus de Shope,
au niveau des papillomes obtenus par badigeonnages au ben-
zopyrène chez les lapins à hypophyse détruite.
(Bull. Assoc. Franç. Etude Cancer, 1937, 26, 154).

81 - LACOUR (F.), LACOUR (T.), HAREL (T) and HUPPERT (T.). -

Action cancérigène de l'acide ribonucléique extrait de tissus
leucémiques humains.
(Symposium of the Etiology of Leukemia, Seventh Congress
of the Intern. Soc. of Hematology, Rome 1959).

82 - LACOUR (F.), LACOUR (T.), HAREL (T.), and HUPPERT (T.)
1959. -

Cancérisation précoce chez la Souris par injection de pré-
parations contenant de l'acide ribonucléique de tumeurs ho-
mologues.
(C.R. Acad. Sc. 248, 1587).

83 - LACOUR (F.), LACOUR (T.), HAREL (T.) and HUPPERT
(T.). 1959. -

Tumeurs malignes de la Souris provoquées par l'injection
de préparations contenant de l'acide ribonucléique.
(Bull. Cancer, 46, 75).

- 84 - LATARJET (R.), REBEYROTTE (N) and MOUSTACHI (E.) 1958.-
Production de cancers multiples chez des Souris ayant reçu de l'acide ribonucléique extrait de tissus leucémiques isologues ou homologues.
(C. R. Acad. Sc. 246, 853).
- 85 - LEDERBERG (J.) 1957. -
Virus, Genes, and Cells.
(Bacteriol. Rev. 21, 133-39).
- 86 - LURIA (S. E.) 1950. -
Bacteriophage : An essay on Virus reproduction.
(Science III, 507-511).
- 87 - MANDELS TAM (J.) 1958. -
The free amino acids in growing and non-growing populations of Escherichia coli.
(Biochim. J. 69, 103-110).
- 88 - MAN DELSTAM (J.) 1958. -
Turnover of protein in growing and non-growing populations of Escherichia coli.
(Biochim. J. 69, 110-119).
- 89 - MATHE (G.) et KLINE (D. L.) 1960. -
Valeur de la formule leucocytaire. Comparaison des résultats obtenus par la numération différentielle directe en cellule et par la lecture d'un frottis.
(Revue d'Hématologie, 15, 352-355).
- 90 - METCALF (D.), FURTH (J.), and BUFFETT (R. F.). -
Pathogenesis of Mouse Leukemia caused by Friend Virus.
(Cancer Resarch, 1959, 19, 52-58).
- 91 - MOLONEY (J. B.) 1959. -
Preliminary Studies on a Mouse Lymphatic Leukemia Virus Extracted from Sarcoma 37.
(Proc. Am. A. Cancer. Res. 3, 44).
- 92 - MURPHY (E. D.) 1963. -
SJL/J, A new inbred strain of mouse with a high early incidence of reticulum cell neoplasms.
(Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 4, 46).

- 93 - OBERLING (C.) et GUERIN (M.) 1954. -
The Role of Viruses in the Production of Cancer.
(Advances in Cancer Research, 2, 253).
- 94 - PAULING (L.), COREY (R. B.) 1953. -
Structure of the Nucleic Acids.
(Nature 171, 346.)
- 95 - RAMSEY (D. S.) and STANSLY (P. A.) 1959. -
Ultracentrifugal Studies of Ribonucleic Acid from Normal
and Neoplastic Mouse Tissues.
(Proc. Amer. Assoc. for Cancer Research, 3, 55).
- 96 - REBSTOCK (M. C.), CROOKS (H. M.), CONTROULIS (J.)
and BARTZ (Q. R.) 1949. -
Chloramphenicol (chloromycetin). IV. Chemical studies.
(J. Am. Chem. Soc. 71, 2458-62).
- 97 - ROGER (R.), JULLIEN (P.), RUDALI (G.) et STERN (G.) 1958. -
Etude de corpuscules contenant des acides nucléiques, dans
les tissus leucosiques de Souris AKR.
(Sang. 29, 292-297).
- 98 - ROUS (P.) and BEARD (J. W.) 1935. -
The progression to Carcinoma of Virus-induced Rabbit
Papillomas (SHOPE).
(J. Exper. Med. 62, 523-548).
- 99 - ROUS (P.) et KIDD (J. G.). -
The activating transforming and carcinogenic effects of the
rabbit papilloma virus (Shope) upon implanted tar tumors
(J. Exp. Med. 1940, 71, 787).
- 100 - RUBIN (H.) and TEMIN (H. M.) 1958. -
Infection with the Rous Sarcoma Virus in vitro.
(Fed. Proceedings, 17, 994-1003).
- 101 - SCHOOLMAN (H. M.) SPURRIER (W.), SCHWARTZ (S. O.)
and SZANTO (P. D.) 1957. -
Studies in Leukemia VII.
The Induction of Leukemia in Swiss Mice by Means of Cell-
Free Filtrates of Leukemia Mouse Brain.
(Blood, 12, 694).

102 - SCHRAMM (G.) 1958. -

Biochemistry of Viruses

(Ann. Rev. Biochemistry, 27, 101).

103 - SCHREK (R. A.) 1936. -

A method for counting the viable cells in normal and in Malignant cell suspensions.

(Am. J. Cancer 28, 389-92).

104 - SCHWARTZ (S. O.), SCHOOLMAN (H. M.) SZANTO (P. B.) and SPURRIER (W.) 1957. -

Studies in Leukemia : VI. The induction of Leukemia in AKR Mice by Means of Cell-Free Filtrates of Humans who Died of Leukemia.

(Cancer Res. 17, 218).

105 - SHOPE (R. E.) 1932. -

A transmissible tumor-like condition in Rabbits.

(J. Exper. Med. 56, 793-802);

106 - SHOPE (R. E.) 1933. -

Infections Papillomatosis of Rabbits.

(J. Exp. Med. 58, 607-624).

107 - STANLEY (W. M.) 1958. -

Relationships, Established and Prospective, between Virus and Cancer.

(Ann. N. Y. Acad. Sc. 71, 1100-13).

108 - STEWART (S. E.) and EDDY (B. E.) 1958. -

Neoplasms in Mice Inoculated with a Tumor Agent Carried in Tissue Culture.

(J. Nat. Cancer Inst. 20, 1223).

109 - STOCK (C. C.) 1950. -

Aspects of approaches in experimental cancer chemotherapy.

(Am. J. Med. 8, 658-674).

110 - THOMAS (R.) 1959. -

Effects of chloramphenicol on genetic replication in bacteriophage. (Virology, 9, 275-289).

111 - TRAN BA LOC (1959). -

Conservation des cellules vivantes aux basses températures.
(Rev. Franç. d'Et. Clin. et Biol, 4, 76-77).

112 - TRAN BA LOC (1959). -

Thèse de doctorat-ès-Sciences :

- Essais chimiothérapiques sur la leucémie L 1210 de la souris avec les amines poly cycliniques, les dérivés de l'isothiocyanate et de l'uréthane, les thiosemicarbazones, et protection avec des cellules hématopofétiques.
- Essais de transports électifs à des cellules cancéreuses de combinaisons de l'A-Méthoptérine.

113 - TRAN BA LOC (1962). -

Conservation des tissus cancéreux aux basses températures, in "Survie et conservation biologique" Masson édit. p. 279 303.

114 - TRAN BA LOC et BERNARD (J.) 1960. -

Effet sur la leucémie L 1210 de la Souris d'un anti-acide nucléique obtenu à partir de l'acide nucléique isolé de cette même leucémie.
(C.R.Acad.Sc. 251, 477-78).

115 - TRAN BA LOC et BERNARD (J.) 1960. -

A new way in Anti-Leukemic Chemotherapy.
(Communication au VIIIe Congrès International d'Hématologie. Tokio) Septembre.

116 - TRAN BA LOC et GERMAN (A). 1963. -

Etude comparé des extraits tissulaires de la leucémie L 1210, du Sarcome ST₄, et de la tumeur mammaire sur la tension artérielle du Lapin.
(Journal de Physiol. 55, p. 178-179).

117 - WATSON (J.D.) and CRICK (F.H.C.) 1953. -

A structure for deoxyribose nucleic acid.
(Nature, 171, 737).

118 - WECKER (E.) 1959. -

The extraction of infections virus nucleic acid with hot phenol.
(Virology, 7, 241).

- 119 - WISSEMAN (C. L. Jr.) SMADEL (J. E.) HAHN (F. E.) and HOPPS (H. E.) 1954. -

Mode of action of chloramphenicol (Ca). I. Action chloramphenicol on assimilation of ammonia and on synthesis of proteins and nucleic acids in *Escherichia coli*.

J. Bacteriol. 67, p. 662-673.

- 120 - WITKIN (E. M.) and THEIL (E. C.) 1960. -

The effect of post treatment with chloramphenicol on various ultra-violet induced mutations in *Escherichia coli*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 46, p. 226-231.

- 121 - WOOLLEY (G. W.) and SMALL (M. C.) 1956. -

Experiments on Cell-Free Transmission of Mouse Leukemia (Cancer, 9, 1102).

TABLE DES MATIERES

	Pages
- Introduction à la cancérogénèse chimique.....	3
- Chimie du Chloramphénicol	5
- Induction d'une tumeur transplantable, dénommée Sarcome ST ₄ , chez des Souris Swiss adultes par injections de chloramphénicol à haute dose Etude hématologique	13
- Etude de la pathogénie du Sarcome ST ₄	16
- Culture des cellules tumorales du Sarcome ST ₄	17
- Conservation des tumeurs ST ₄ aux basses températures voisines de -80°C. Appareil d'abaissement de tempé- rature avec programmation électronique	18
- Généralités sur la structure des acides nucléiques...	23
- Isolement de l'acide désoxyribonucléique et de l'acide ribonucléique du Sarcome ST ₄	25
- Mise au point d'une nouvelle méthode de dépro- téinisation de l'acide ribonucléique utilisant le carvacrol	26
- Etude comparée des spectres aux rayons ultra- violetts des acides nucléiques isolés de cellules d'Invertébrés et de vertébrés normaux et de cel- lules cancéreuses	29
- Rapports entre virus et cancers.....	35
- Activité biologique du liquide acellulaire prove- nant de la centrifugation du broyat de la tumeur ST ₄	53
- Transmission du Sarcome ST ₄ aux Souris Swiss âgées de 3 semaines par le filtrat obtenu à travers bougies	53

II

- Essais de mise en évidence des virus de Sarcome ST ₄ au microscope électronique	54
- Etude immuno-chimique du Sarcome ST ₄	54
- CONCLUSIONS	55
- RESUME	57
- BIBLIOGRAPHIE	

oOo

